

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Matthias Graw

Untersuchungen zur ETG- Kinetik

Dissertation
Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians -Universität zu München

Vorgelegt von
Khatera Ayni-Ahadi

Aus
Kabul

Jahr
2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Matthias Graw

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Markus Backmund

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.03.2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abbildungsverzeichnis.....	3
Tabellenverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
1 Einleitung	7
1.1 Ethanol im gesellschaftlichen Zusammenhang	7
1.1.1 Alkoholmetabolismus.....	9
1.1.2 Schematische Übersicht des Alkoholabbaus	11
1.1.3 Alkoholkonsummarker	12
1.2 Ethylglucuronid	13
1.2.1 Bildung von EtG.....	13
1.2.2 EtG-Kinetik	15
1.2.3 Diagnostischer Wert in Blut/Serum, Urin und Haaren.....	15
1.3 Ableitung der Fragestellung	17
2 Material und Methode	18
2.1 Versuchsaufbau und -protokoll	18
2.2 Schematische Darstellung des Versuches:	20
2.3 Probenentnahme und -verarbeitung.....	22
2.4 Messmethode.....	24
2.4.1 Ethanolbestimmung in biologischem Material mittels GC-Methode.....	24
2.4.2 ETG-Analyse und Vorbereitung der Probe	26
2.5 LC-MS/MS- Was ist das eigentlich?.....	27
2.5.1 Aufbau eines LC-MS/MS-Systems	27
3 Ergebnisse	29
4 Diskussion.....	53
5 Zusammenfassung	60
6 Danksagung.....	63
Literaturverzeichnis	64

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Summenformel: C ₂ H ₆ O (Biochemiebuch, Löffler, 9. Auflage).....	7
Abbildung 2: Verteilung des Alkohols über alle wasserhaltigen Körperbestandteile	10
Abbildung 3: Enzymatische Oxydation von Alkohol zu Essigsäure	12
Abbildung 4: Darstellung über die Bildung von direkten Ethanolmetaboliten (Wurst et al. Ärzte Krone 5/2008) [41].....	13
Abbildung 5: EtG-Strukturformel.....	13
Abbildung 6: EtG-Bildung aus Alkohol und UDP-D-Glucuronsäure (Schloegel 2006)	14
Abbildung 7: Headspace-Probengeber und Flammenionisationsdetektion (Fa. Perkin Elmer)	24
Abbildung 8; GC HP 5890 (Clarus 500) (Fa. Perkin Elmer).....	25
Abbildung 9: Headspace Sampler Turbo Matrix 110 (Fa. Perkin Elmer)	25
Abbildung 10: HP1200 HPLC system-Agilent Technologies (Fa. Perkin Elmer).....	26
Abbildung 11: Elektrosprayionisation [46]	27
Abbildung 12: Triple-Quad-Darstellung [32].....	28
Abbildung 13: Korrelation mit den Rechenmodellen.....	29
Abbildung 14: Invasaion von EtG und EtOH bei den männlichen Probanden	32
Abbildung 15: Elimination von EtG und EtOH bei den männlichen Probanden	32
Abbildung 16: Invasion von EtG und EtOH bei den weiblichen Probanden	33
Abbildung 17: Elimination von EtG und EtOH bei den weiblichen Probanden	33
Abbildung 18: BAK- und EtG-Verlauf Proband 1	35
Abbildung 19: BAK- und EtG-Verlauf Proband 2	35
Abbildung 20: BAK- und EtG-Verlauf Proband 3	36
Abbildung 21: BAK- und EtG-Verlauf Proband 4	36
Abbildung 22: BAK- und EtG-Verlauf Proband 5	37
Abbildung 23: BAK- und EtG-Verlauf Proband 6	37
Abbildung 24: BAK- und EtG-Verlauf Proband 7	38
Abbildung 25: BAK- und EtG-Verlauf Proband 8	38
Abbildung 26: BAK- und EtG-Verlauf Proband 9	39
Abbildung 27: BAK- und EtG-Verlauf Proband 10	39
Abbildung 28: BAK- und EtG-Verlauf Proband 11	40
Abbildung 29: BAK- und EtG-Verlauf Proband 12	40
Abbildung 30: BAK- und EtG-Verlauf Proband 13	41
Abbildung 31: BAK- und EtG-Verlauf Proband 14	41
Abbildung 32: BAK- und EtG-Verlauf Proband 15	42
Abbildung 33: BAK- und EtG-Verlauf Proband 16	42
Abbildung 34: BAK- und EtG-Verlauf Proband 17	43
Abbildung 35: BAK- und EtG-Verlauf Proband 18	43
Abbildung 36: BAK- und EtG-Verlauf Proband 19	44

Abbildung 37: BAK- und EtG-Verlauf Proband 20	44
Abbildung 38: BAK- und EtG-Verlauf Proband 21-V2	45
Abbildung 39: BAK- und EtG-Verlauf Proband 22-V2	45
Abbildung 40: BAK- und EtG-Verlauf Proband 23	46
Abbildung 41: BAK- und EtG-Verlauf Proband 24	46
Abbildung 42: BAK- und EtG-Verlauf Proband 25	47
Abbildung 43: Mittelwert BAK und ETG Verlauf bei den weiblichen Probanden.....	48
Abbildung 44: Mittelwert BAK und ETG Verlauf bei den männlichen Probanden	48
Abbildung 45: Vergleich des BAK- Eliminationsverlaufs zwischen männlichen und weiblichen Probanden	49
Abbildung 46: Vergleich des ETG-Eliminationsverlaufs zwischen männlichen und weiblichen Probanden	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schematische Darstellung des Versuches.....	20
Tabelle 2: Probandendaten.....	21
Tabelle 3: Probandendaten.....	23
Tabelle 4: Probandendaten.....	30
Tabelle 5: Invasion und Elimination von EtOH und EtG (Proband 4 und 12 zeigen erhöhte Werte, da beide bei der Nüchtern Probe bereits erhöhte EtG-Werte aufwiesen)	31
Tabelle 6: Vergleich zwischen Proband 4 und 12	47
Tabelle 7: Vergleich zwischen Proband 21 und 22, Versuch 1 und Versuch 2.....	49
Tabelle 8: Vergleich zwischen Proband 1 und 20	49
Tabelle 9: Die interindividuelle Streuung bei der Invasion und Elimination von ETG geschlechtsunabhängig.....	50
Tabelle 10: Die Invasion und Elimination von ETG für das weibliche Geschlecht.....	51
Tabelle 11: die Invasion und Elimination von ETG für das männliche Geschlecht.....	51
Tabelle 12: Gegenüberstellung der interindividuellen und geschlechterspezifischen Streuung	52

Abkürzungsverzeichnis

AAK	Atemalkoholkonzentration
ADH	Alkoholdehydrogenase
ALDH	Aldehyddehydrogenase
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
BAK	Blutalkoholkonzentration
BMI	Body-Mass-Index
CDT	Carbohydrate-Deficient-Transferrin
DHS	Deutsche Hauptstelle für Suchtanfragen
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EtG	Ethylglucuronid
EtS	Ethylsulfat
FAEEs	Fettsäureethylester
GABA	γ -Amino-Buttersäure
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ -GT	Gamma-Glutamyltransferase
HDL	High-Density-Lipoprotein-Cholesterin
MEOS	Microsomales Ethanol-oxidierendes System
MCV	Mean corpuscular volume
MS-MS	Tandem-Massenspektrometer
NAD	Nikotinamid- Adenin- Dinukleotid
NADH	Nikotinamid- Adenin- Dinukleotid –Hydrid
OG/ UG	Obere Grenze/ Untere Grenze
PEth	Phosphatidylethanol
UDP	Uridin-5'-diphosphat

1 Einleitung

1.1 Ethanol im gesellschaftlichen Zusammenhang

Die Herkunft des Wortes "Alkohol" kommt aus dem arabischen Sprachraum "al-kuhl". Es heißt dort „feinstes Pulver“ und wurde früher als Antimonpulver für kosmetische Zwecke, z.B. zum Schwärzen der Augenlider verwendet [1]. Ethanol, wird umgangssprachlich als Alkohol bezeichnet, es ist eine klare, farblose und leicht entzündliche Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von 78,3 Grad Celsius. Die Herstellung erfolgt durch Vergärung von zucker- und stärkehaltigen Stoffen. Bei dem Prozess der Gärung sind Kleinlebewesen wie Pilze oder Bakterien eingebunden [2].

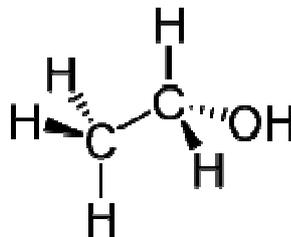


Abbildung 1: Summenformel: C₂H₆O (Biochemiebuch, Löffler, 9. Auflage)

Alkoholische Getränke haben als Nahrungs-, Genuss- und Rauschmittel eine weitreichend hiesige Tradition. In Deutschland und in vielen anderen Ländern ist Alkohol als Genussmittel kulturell fest verankert. Daher ist es nicht verwunderlich, dass Alkoholismus in unserer Gesellschaft eine weit verbreitete Suchtkrankheit ist, welche soziale, ökonomische und vor allem medizinische Folgen hat.

Alkoholkrankheiten sind in der Medizin von hoher Bedeutung. Ca. 20% der Patienten im Krankenhaus haben alkoholassoziierte Erkrankungen [47]. Die Erkrankungs- und Sterblichkeitsraten sind bei dieser Patientengruppe deutlich erhöht [48].

Übermäßiger Alkoholkonsum ist schädlich für das Herz und den Kreislauf. Ca.15% der alkoholbezogenen Sterbefälle basieren auf eine Herz-Kreislauf-Erkrankung [33]. Die Entstehung von Bluthochdruck wird ebenfalls durch den Alkohol begünstigt. Des Weiteren kann exzessiver Alkoholkonsum das Risiko für Schlaganfall, neurologische Störungen, Störungen im Verdauungssystem und vor allem für Leberkrankheiten erhöhen. Alkohol löst nachweislich Krebs aus. Es besteht ein erhöhtes Risiko der Krebsentste-

hung in der Leber, Speiseröhre, Darm, Mund- und Rachenraum. Bei Frauen kommt Brustkrebs dazu [43]. Bei den operativen Patienten, die eine Alkoholkrankheit haben, ist das Risiko einer Blutungs- und kardialen Komplikation, einer Infektion oder einer Sepsis bis zu drei bis vierfache erhöht [49].

Alkoholkonsum verursacht darüber hinaus somatische und psychische Erkrankungen, die eine negative Auswirkung auf die Lebensbereiche von Konsumenten, ihren Familien und auf die soziale Umgebung haben. Alkoholismus führt z.B. zu Vergiftungen, Unfällen und der Bereitschaft zur Verübung von Gewaltaktionen. Die Mehrheit von Sterbefällen hängt mit dem falschen Umgang von Alkohol zusammen. [29,31,36].

Die kritische Alkoholkonsumgrenzmarke wird ab einem regelmäßigen Konsum von über 30 g reinen Alkohol täglich für Männer und 20 g für Frauen angenommen [50]. Laut dHS leiden ca. 1,3 Millionen Menschen an einer Alkoholsucht, ca. 2 Millionen Menschen üben einen Alkoholmissbrauch aus und bei ca. 9,5 Millionen Menschen (18,3%) liegt ein kritischer Alkoholkonsum vor [51].

Die Alkoholwirkung auf den Organismus ist vielfältig. Mit steigendem Alkoholkonsum verschlimmern sich die Auswirkungen [4,21].

- Bereits 0,2 - 0,5 Promille führen zu Konzentrationsschwierigkeiten und einer erhöhten Risikobereitschaft.
- Ab 0,5 Promille treten Gleichgewichtsstörungen auf, die Reaktionszeit wird verlängert und Hemmungen werden abgebaut.
- Ab 0,8 Promille kommt es zunehmend zu Gleichgewichtsstörungen, eingeschränktem Blickfeld und Tunnelblick.
- Bei 1 - 2 Promille treten Sprachstörungen und Orientierungsunfähigkeit auf, die Reaktionsfähigkeit ist erheblich vermindert.
- Ab 2 - 3 Promille treten Schmerzunempfindlichkeit, Gedächtnisverlust und Eintrübung bis hin zur Bewusstlosigkeit auf.
- 4 Promille führt zu Atemstillstand, Koma, Herz-Kreislauf-Versagen und schließlich zum Tod.

Das Robert Koch-Institut erstellte eine Kostenschätzung, dass alkoholbedingte Erkrankungen in Deutschland eine wirtschaftliche Bürde von ungefähr Zwanzig Milliarden Euro pro Jahr verursachen [36]. Die Weltgesundheitsorganisation WHO berichtet in einem

aktuellen Report, dass pro Jahr ca. 3,3 Millionen Todesfälle international auf exzessiven Alkoholismus basieren [37].

„Die Kernzahlen des Reports:“

- „Der durchschnittliche Konsum im Jahr 2010 lag bei 6,2 Liter reinem Alkohol (Bevölkerung über 14 Jahre). Das entspricht ca. 13,5 Gramm reinem Alkohol pro Tag.“
- „In Deutschland lag der durchschnittliche Konsum bei ca. 11,8 Liter pro Kopf und Jahr.“

Die Alkoholmasse pro Jahr kommt durch folgenden alkoholischen Getränken zustande: „105,5 Liter Bier, 20,4 Liter Wein und 5,4 Liter Spirituosen“ [37].

1.1.1 Alkoholmetabolismus

Der Alkoholstoffwechsel erfolgt in folgenden Perioden:

- Resorptionsperiode (Aufnahmephase)
- Diffusionsperiode (Disseminationsphase)
- Eliminationsperiode (Abbauphase)

Etwa 2% des konsumierten Alkohols werden bereits während des Trinkens von der Mundschleimhaut und in der Speiseröhre aufgenommen. Ca. 10-15 % von der getrunkenen Alkoholmenge gelangen über die Magenschleimhaut in das Blut. Der Alkohol wird überwiegend im oberen Dünndarm vom Körper aufgenommen, weshalb man die Wirkung in der Regel erst nach einer gewissen Zeit spürt. Das mit Sauerstoff angereicherte Lungenblut gelangt über den Lungenkreislauf in den arteriellen Körperkreislauf, davon ca. 25% des HMV in das Gehirn. D.h. das Gehirn wird mit „viel Alkohol“ konfrontiert und es kommt zu einer Anflutung [34,17].

Die Geschwindigkeit der Alkoholaufnahme ist bedingt vom Füllstand des Magens sowie von der Art der Speise. Der Alkohol wird vom Körper bei leerem Magen, kohlen-säurehaltigen Getränken oder hochprozentigen Spirituosen wesentlich schneller aufgenommen als nach einer opulenten Mahlzeit. Fetthaltige Nahrungsmittel können zusätzlich die Resorptionsgeschwindigkeit dementsprechend verzögern. Spätestens zwei Stunden nach Alkoholaufnahme ist die Passage des Alkohols aus dem Verdauungstrakt in den Körper abgeschlossen (Resorptionsperiode) [35,12,18].

Von der konsumierten Alkoholmenge gelangen 70-90 % in den Blutkreislauf. Die restlichen 10-30% werden als Resorptionsdefizit bezeichnet. Dieser Anteil des Resorptionsdefizits ist abhängig von der Art und vom Alkoholgehalt der Spirituose. Beispielsweise für Schnaps (40 Volumen %): 10%, Wein (12 Volumen %) und Sekt (20 Volumen %): 20%, Bier (5 Volumen %): ca. 25-30%, voller Magen und forcierte Aufnahme bis zu 50%. Es gibt diverse Ursachen des Resorptionsdefizits, da ein Teil des konsumierten Alkohols abgeatmet oder ausgeschwitzt wird und ein anderer Teil durch die gastrale ADH bereits vor dem Übergang in den Blutkreislauf oxidiert wird [22]. Dieser Mechanismus ist aus rechtsmedizinischer Sicht nicht eindeutig geklärt.

Der Alkohol verteilt sich nach der Aufnahme überwiegend im wasserhaltigen Körpergewebe, welches im Durchschnittswert bei männlichen und weiblichen Personen zwischen 60 und 70% bzw. zwischen 50 und 60% der Körpermaße (des "Gewichts") ausmacht, während das Fettgewebe nur eine geringe Alkoholaufnahme aufweist, da der Alkohol im Wesentlichen hydrophil und lipophob ist. Da alle Gewebsarten einen verschiedenen Wassergehalt haben (z. B. Muskel bis zu 80%, Gehirn 73%, Leber 50%), werden daher diese Gewebe ungleichmäßig mit Alkohol angereichert [4, 30, 41].

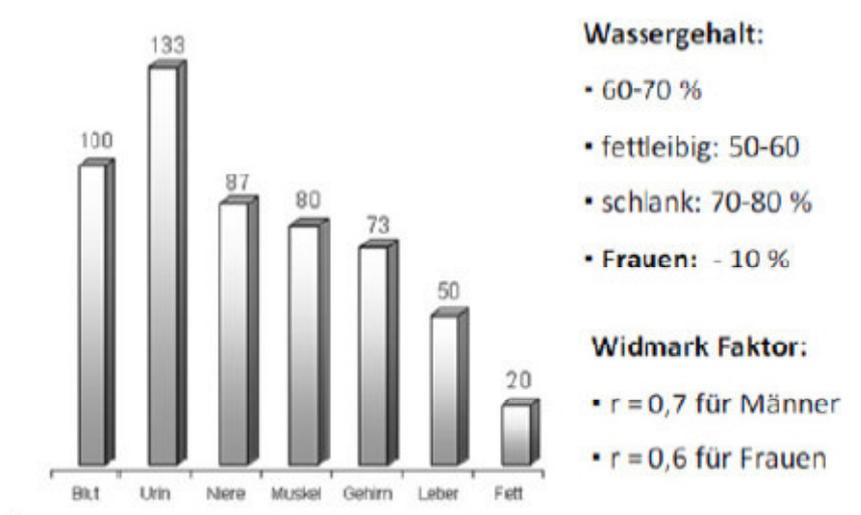


Abbildung 2: Verteilung des Alkohols über alle wasserhaltigen Körperbestandteile

Wie bereits beschrieben, ist der Wasseranteil bei jedem Menschen unterschiedlich. Daher muss bei der Berechnung der BAK diese Tatsache berücksichtigt werden. Der Körperfettanteil der Frauen liegt durchschnittlich höher als bei Männern. Dies zeigt sich anhand eines kleineren Widmarkfaktors. Bei einer starken Abweichung eines Indivi-

duums von seiner Referenzgruppe z.B. durch Über- oder Untergewicht kann es unter Umständen zu einer Fehlberechnung der BAK kommen [23].

Die Widmark-Formel wurde von dem schwedischen Chemiker Erik M. P. Widmark zur Bestimmung der theoretischen maximalen BAK entwickelt [13]:

$$c = \frac{A}{m \cdot r}$$

- c = die Blut-Alkoholkonzentration in Gramm pro Kilogramm Blut
- A = konsumierte Alkoholmenge in Gramm [g]
- M = Gewicht der Person in Kilogramm [kg]
- r = der Reduktions- oder Disseminationsfaktor im Körper
 - Männer: 0,70
 - Frauen: 0,60

Ethanol, verglichen mit anderen Nahrungsmitteln wird im Körper nicht gespeichert. Nach der Aufnahme erfolgt die Verteilung im Gewebe sehr schnell durch den Blutstrom. Der Stoffwechsel von Alkohol findet hauptsächlich in der Leber statt. Lediglich ein geringer Anteil der konsumierten Alkoholmenge wird unmodifiziert über Nieren (0,3%), Lungen (0,7%) und Haut (0,1%) ausgeschieden (Alkoholelimination). Auch über die Muttermilch kann eine Alkoholausscheidung erfolgen. Da die Muttermilch einen höheren Wassergehalt als das Blut aufweist, ist die Ethanolkonzentration im Blut um ca.10% größer [4,30].

Alkohol wird in der Leber durch das Enzym Alkoholdehydrogenase (ADH) zu Acetaldehyd abgebaut, welches für den Organismus sehr giftig und unter anderem für die Leberschädigung verantwortlich ist. Anschließend erfolgt die Umwandlung von Acetaldehyd in Essigsäure (Acetat) durch das Enzym Aldehyddehydrogenase (ALDH) [17]. Der Abbau und die Ausscheidung dieses Enzyms erfolgt wiederum durch eine Vielzahl von weiteren Schritten zu Wasser und Kohlenstoffdioxid. Hierfür wird ein NAD als Co-Enzym erforderlich, welches in NADH modifiziert wird. Um erneut beim Ethanolabbau helfen zu können, erfolgt die Reoxidation von NADH zu NAD [34,19].

1.1.2 Schematische Übersicht des Alkoholabbaus

Die Unterteilung des oxidativen Alkoholabbaus ist in folgenden Stufen gegliedert:

- I. Oxidation des Alkohols → Acetaldehyd
- II. Oxidation des Acetaldehyd → Essigsäure (Acetat)
- III. Oxidation des Acetat → Kohlendioxid und Wasser im Citratzyklus

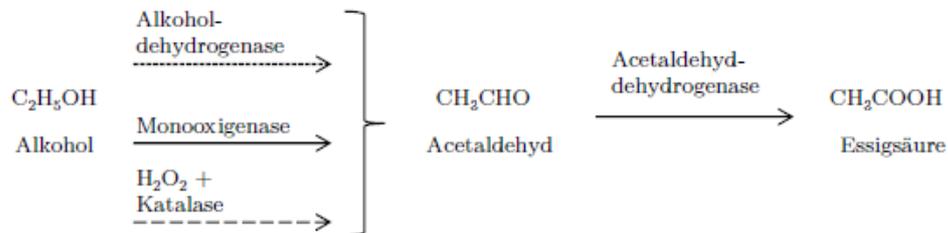


Abbildung 3: Enzymatische Oxydation von Alkohol zu Essigsäure

Das MEO-System (Microsomal-Ethanol-Oxidizing-System) ist ein Ethanoleliminationsmechanismus in den Leberzellen. Hier ist für die Alkoholoxidation das Co-Enzym NADPH (Nicotinamidadenindinukleotidphosphat) erforderlich. Das MEO-System wird erst bei extrem hohen Blutalkoholkonzentrationen aktiv [3, 4, 5, 42]. Bei Alkoholikern oder Personen mit extrem hohen Blutalkoholkonzentrationswerten ist darüberhinaus ein Abbau bis zu 0,29 Promille/Stunde denkbar [23, 40].

1.1.3 Alkoholkonsummarker

Für den Nachweis einer Alkoholabstinenz und zur Einschätzung des Alkoholkonsumverhaltens eines Probanden, gibt es verschiedene Alkoholkonsummarker. Hierbei unterscheidet man zwischen direkten und indirekten Markern.

Durch die indirekten Marker Carbohydrate-Deficient-Transferrin (CDT), Gamma-GT, Aspartat-Aminotransferase (ASAT), Alanin-Aminotransferase (ALAT) und mean corpuscular volume (MCV) werden die Alkoholimplikationen im Körper gemessen. Es gibt verschiedene Einflussvariablen wie z.B. Alter, Geschlecht, verschiedene Substanzen und nicht alkoholbedingte Beeinträchtigungen [6,7,8,20].

Direkte Marker entstehen im Körper durch die direkte Aufnahme bzw. durch den Metabolismus von Alkohol, z.B. Ethylglucuronid (EtG), Ethylsulfat (EtS), Phosphatidylethanol (PEth) und Fettsäureethylester (FAEEs). Sie weisen eine sehr hohe Sensibilität und Spezifität auf (siehe Abbildung 4).

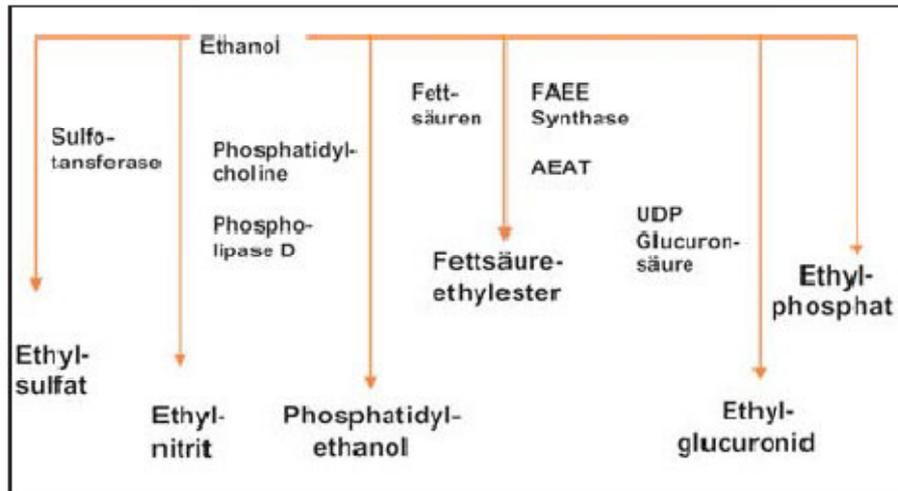


Abbildung 4: Darstellung über die Bildung von direkten Ethanolmetaboliten (Wurst et al. Ärzte Krone 5/2008) [41]

1.2 Ethylglucuronid

Im Jahr 1952 wurde EtG von Kamil et al. aus dem Urin von Kaninchen isoliert [24]. Jaakonmaki gelang es erstmals 1967 mittels Gaschromatographie, EtG aus dem menschlichen Urin nachzuweisen [26]. Eine LC-MS-Methode wurde ebenfalls belegt, hinzu wurde ein Immunoassay, welche auf EtG anspricht, angefertigt [10, 25, 44].

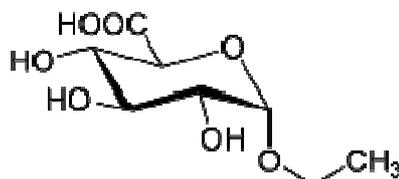


Abbildung 5: EtG-Strukturformel

- Summenformel: C₈H₁₄O₇
- Molmasse: 222 g/mol
- Schmelzpunkt: 150°C

1.2.1 Bildung von EtG

Ethylglucuronid (EtG) ist ein wasserlösliches, nicht flüchtiges, direktes Stoffwechselprodukt, ein sogenannter Phase-II-Metabolit des Trinkalkohols, ist daher sehr spezifisch und hat eine hohe Empfindlichkeit für bereits konsumierten Alkohol. Es ist ein sehr spezifischer Marker, welcher durch hepatische Glucuronidierung (Bindung des Ethanols an aktivierte Glucuronsäure) gebildet und über die Niere ausgeschieden wird [16, 25]. Das Enzym UDP-Glucuronosyltransferase ist der Katalysator dieser Reaktion. (siehe

Abb. 6). Das EtG wird bereits beim Konsum geringer Alkoholmengen gebildet, d.h. die Ansprechschwelle ist sehr niedrig [15]. Es schließt die diagnostische Lücke zwischen dem kurzfristigen Alkoholmarker (BAK) –nachweisbar nach nur wenigen Stunden und dem langfristigen Nachweis von CDT – Marker des chronischen Alkoholabusus [9,28].

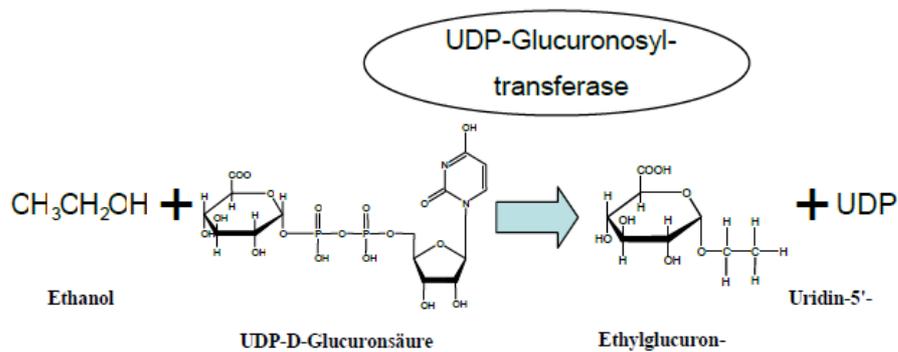


Abbildung 6: EtG-Bildung aus Alkohol und UDP-D-Glucuronsäure (Schloegel 2006)

Das EtG wird im Gegensatz zum Ethanol wesentlich langsamer ausgeschieden, daher kann das EtG sogar nach vollständiger Elimination des Blutalkohols aus dem Körper nachgewiesen werden.

Das EtG weist eine längere Halbwertszeit ($t_{1/2} = 2\text{-}3\text{Stunden}$) als Alkohol auf, daher kann bei Probanden, die regelmäßig Alkohol konsumieren eine Anhäufung der Substanz im Körper nachweisbar sein. EtG ist ein sehr stabiles Stoffwechselprodukt. Die Routine-Analytik zum Nachweis von EtG geht von Serum, Urin oder Haaren aus. Bei Post-Mortem-Untersuchungen ist der EtG-Nachweis grundsätzlich aus Leber, Fett, Gehirn, Nieren oder Knochenmark möglich [11,14].

Die Aufnahme von Alkohol wird durch den EtG-Nachweis im Blut oder Urin belegt. Jedoch ist die direkte Rückrechnung auf die konsumierte Alkoholmenge von dem ermittelten EtG-Wert nicht durchführbar. Die Untersuchung der Betroffenen auf EtG ist eine gute Methode zur Überwachung von stationären Alkoholentzugspatienten und für Personen, die im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik Alkoholabstinenz zu belegen haben (nach spontaner 24-stündiger Einbestellungsfrist) [38, 39].

1.2.2 EtG-Kinetik

Bei allen Probanden konnte im Trinkversuch festgestellt werden, dass der Abbau von Ethylglucuronid im Serum nach einer Kinetik 1. Ordnung verläuft. Die Reaktion erster Ordnung ist ein typisch exponentieller Abfall der Konzentration mit der Zeit.

Siehe Abbildung 12: EtG-Verlauf

$$[A] = [A]_0 e^{-k_1 t}$$

[A] = aktuelle Konzentration

[A]₀ = Anfangskonzentration zum Zeitpunkt Null

k₁ = Geschwindigkeitskonstante

t = Zeit

Bei der Reaktion 1. Ordnung ist die Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von der Konzentrationsentwicklung mit der Zeit. Bei Reaktionen 1. Ordnung ist die Halbwertszeit umgekehrt proportional zur Geschwindigkeitskonstante.

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_1}$$

Im Gegensatz zum EtG, ist der Ethanolabbau eine Reaktion 0. Ordnung. Die Reaktion 0. Ordnung ist ein linearer Abfall der Konzentration mit der Zeit. Wir erhalten eine Gerade. Die Steigung dieser Gerade ist konstant (siehe Abbildung 12: BAK-Verlauf). Die Reaktionsgeschwindigkeit ist konstant und unabhängig von der Konzentration.

$$r = k_0 \cdot [C_2 H_5 OH]$$

k₀ = Geschwindigkeitskonstante [%o x h⁻¹/l/s]

r = Änderung der Konzentration mit der Zeit

Bei der Reaktion 0. Ordnung wird die Halbwertszeit im Laufe der Reaktion immer kürzer.

1.2.3 Diagnostischer Wert in Blut/Serum, Urin und Haaren

Das Stoffwechselprodukt EtG kann im Serum bis zu 2 Tage nach dem Verzehr von Alkohol nachgewiesen werden. Im Urin beträgt die Nachweisdauer sogar 3 bis 4 Tage. Mittels Haaranalyse ist ein EtG-Nachweis ebenfalls möglich, welches das diagnostische Zeitfenster deutlich erweitert [12]. Die Anwendung dieser Verfahren wird allerdings bei ganz bestimmten Fragestellungen wie z.B. im Straßenverkehr- im Rahmen der

Fahreignungsprüfung-, bei forensischen Fragestellungen, in den Entwöhnungsprogrammen hinsichtlich der Therapie der Alkoholkrankheit, in der Transplantationsmedizin und in der Betriebsmedizin eingesetzt.

Hinsichtlich der Verkehrssicherheit ist EtG inzwischen ein sehr wichtiger Baustein in der Begutachtung. In der Regel sind im Falle eines Alkoholmissbrauchs oder einer Abhängigkeit von Alkohol Abstinenznachweise im Rahmen einer MPU erforderlich. Mit diesen Nachweisen soll die Fähigkeit zur Abstinenz belegt werden. Früher war es ausreichend Leberwerte wie GGT, GOT und MCV vorzuweisen [52]. Mittlerweile sind die Forderungen angestiegen und es sind EtG-Nachweise zwangsläufig notwendig. Die Testperson muss kurzfristig an einem unvorhersehbaren Termin zur Urinproben Abgabe erscheinen. Die Urinprobenabgabe erfolgt unter Sicht, um Manipulationen und/oder Vertauschungen möglichst auszuschließen. Wenn der Test negativ ausfällt, geht die gutachterliche Praxis davon aus, dass der Proband die Abstinenzregel befolgt hat [53]. Die Abstinenznachweise müssen einen Zeitraum von Sechs Monate oder einem Jahr umfassen [54]. Alternativ zu Urinproben können auch Haarproben erhoben auf EtG untersucht werden. Weiterhin kann EtG als Marker bei der Kontrolle von Patienten mit einer Alkoholtoxischen Leberzirrhose verwendet werden. Dies ist effektiver als die Eigenanamnese des Patienten oder einer Analyse von Leberwerten [55,56].

Einen hohen Stellenwert hat EtG auch in der Transplantationsmedizin. Für die Führung der Wartelisten von Patienten vor Lebertransplantationen fordern die Richtlinien der Bundesärztekammer verpflichtend, dass bei den Patienten vor der Aufnahme auf die Warteliste bzw. während sie auf eine Organtransplantation warten ein EtG Test im Urin durchgeführt wird [57].

Fällt ein EtG-Urinbefund positiv aus, wird der Patient von seinem betreuenden Arzt mit dem Ergebnis konfrontiert und er wird einem Psychologen bzw. Psychiater des Transplantationsprogramms vorgestellt. Viele Patienten gestehen den Alkoholkonsum ein und sind an einer Suchttherapie interessiert. Im Falle einer Leugnung werden die Patienten von der Liste entfernt. Um falsch positive EtG-Befunde zu minimieren, wie z.B. durch alkoholartige Nahrungsmittelaufnahmen, wird ein cut-off-Wert von 0,5 mg/l statt 0,1 mg/l benutzt (57,58,59).

Das Ziel ist es, die Patienten zu motivieren Abstinenz zu bleiben, um irreversible Schäden des Transplantats zu vermeiden [60].

Die Alkoholkrankheit ist auch ein Thema in der Betriebsmedizin. In den Berufen mit

besonderer Verantwortung wie z.B. Fahrgastbeförderung, Ärzten, Feuerwehr, Polizei und in weiteren sicherheitsrelevanten Berufe können Unternehmen die Beschäftigten im Zuge einer betriebsärztlicher Untersuchung bezüglich Alkohol-, Drogen oder Medikamentenmissbrauch testen. Diese diagnostischen Tests können ein Teil einer Einstellungsprozedur oder in einem bereits bestehenden Beschäftigungsverhältnisses durchgeführt werden. Dies kann in regelmäßigen Zeitspannen oder bei Verdacht auf Alkoholabhängigkeit, welche die Qualifikation des Arbeitnehmers in Frage stellt, durchgeführt werden [61].

Folgende Methoden werden für die EtG-Bestimmung verwendet:

- Enzymimmunoassay (EIA)
- Massenspektrometrie (GCMS / LC-MS/MS)

1.3 Ableitung der Fragestellung

In dieser Arbeit wurden Untersuchungen zur EtG-Kinetik durchgeführt. Hier sollen die kinetischen Betrachtungen, Invasionskinetik und die Eliminationskinetik dazu dienen, Trinkeinlassungen zu beurteilen. Außerdem soll ermittelt werden, ob die Annahme bezüglich einer Alkoholaufnahme mittels EtG-Wert verifiziert oder falsifiziert werden kann.

2 Material und Methode

2.1 Versuchsaufbau und -protokoll

Eine Voraussetzung zur Teilnahme an den Versuchen war, dass die Probanden grundsätzlich gesellschaftlich konform Alkohol konsumieren, nicht alkoholabstinent leben. Die angestrebte Alkoholkonzentration lag bei ca. 0,8 - 1 Promille. Die Probanden waren während der gesamten Versuchsdauer unter ärztlicher Kontrolle, da diese Größen der Alkoholkonzentration zu einem gering- bis mittelgradigen Rausch führen und unter Umständen auch vegetative Symptome wie Übelkeit und Erbrechen nach sich ziehen.

Die Durchführung der Versuche erfolgte an freiwilligen, gesunden Erwachsenen, die aufklärungs- und zustimmungsfähig waren.

Die Fallzahl betrug 25 Probanden, wobei jeder Proband an zwei Versuchen teilnehmen sollte. Die Probanden wurden mündlich und schriftlich aufgeklärt.

Jeder Proband wurde vor Versuchsbeginn orientierend klinisch und laborchemisch (GOT, GPT, γ -GT, alkalische Phosphatase, Bilirubin, kleines Blutbild, Kreatinin) untersucht (siehe ärztlicher Anamnesebogen).

Die Versuche unterlagen hinsichtlich der vorangegangenen Nahrungsaufnahme und der Getränkewahl (übliche Alkoholika) keinerlei Einschränkungen. Die Probanden sollten vor den Versuchen jeweils 24 Stunden alkoholabstinent sein.

Zu Versuchsbeginn, vor dem Trinken, wurde den Probanden jeweils eine Blutprobe (Nüchternprobe) entnommen. Die Blutprobenentnahme erfolgte je nach Wunsch des Probanden durch jeweiligen Nadelstich in die Armvene oder durch eine, zu Versuchsbeginn gelegte, Venenverweilkanüle. Am ersten Tag wurden die Probanden oral mit Alkohol belastet, sodass eine Zielgröße von 0,8 bis 1 Promille innerhalb einer Trinkzeit von 2 Stunden erreicht wurde (Alkoholbelastung bis ca. 1,4g Ethanol/kg Körpergewicht). Nach Abschluss der Trinkzeit von 2 Stunden wurde eine Blutprobe entnommen. Weiterhin wurden 1, 2, 4, und 6 Stunden sowie 12 Stunden nach Trinkende weitere Blutproben entnommen (insgesamt am ersten Versuchstag 7 Blutproben).

Am zweiten Versuchstag (ca.17:00 Uhr) wurde über 2 Stunden wiederum eine Alkoholmenge konsumiert, die zu einer Zielgröße von 0,8 bis 1 Promille bei einer Trinkzeit von

2 Stunden führte. Am Trinken sowie 2 Stunden danach wurden jeweils Blutproben entnommen. Die Probanden wurden, sobald sie subjektiv und objektiv dazu in der Lage waren, nach Hause entlassen.

Der zweite Teil dieses Versuches wurde am nächsten Morgen (3. Versuchstag) ca. 8:00 Uhr) mit einer Blutentnahme (Nüchternprobe) fortgesetzt. Anschließend wurde über eine Stunde Alkohol bis zu einer Zielgröße von 0,5-0,6 Promille konsumiert („Nachtrunk“). Unmittelbar nach Trinken wurde eine Blutprobe entnommen sowie drei weitere im halbstündigen Takt. Mit der initialen Blutprobe wurden am zweiten Versuchsblock somit insgesamt 8 Blutproben entnommen. Die Blutproben umfassten jeweils ca. 3 ml Blut, sodass insgesamt bei 14 Blutproben eine Blutmenge von weniger als 50 ml entnommen wurde.

Alle Informationen und Angaben wurden anonymisiert und streng vertraulich behandelt. Die Daten wurden zahlencodiert gespeichert, sodass auch die Prüfenden die Ergebnisse einzelner Personen nicht zuordnen konnten. Ein Rückschluss auf einzelne Probanden von Seiten Dritter wurde ebenfalls ausgeschlossen. Lediglich die Prüfenden haben im Rahmen der konformen gesetzlichen Richtlinien Zugriff zu den diskreten Daten, in welchen die Probanden namentlich erwähnt werden. Diese Personen unterliegen der Schweigepflicht und tragen die Verantwortung für den Datenschutz. Die Weitergabe von anonymisierten Daten im In- und Ausland dient lediglich zu statistischen und wissenschaftlichen Vorsätzen.

2.2 Schematische Darstellung des Versuches:

	1. Versuchstag	2. Versuchstag	3. Versuchstag (Nachtrunk)
Trinkzeit (Uhr)	08:00 - 10:00	17:00 - 19:00	08:00 - 09:00
Blutprobenentnahmen			
Nüchternprobe	08:00		08:00
I. Probe	10:00	19:00	09:00
II. Probe	11:00	21:00	09:30
III. Probe	12:00		10:00
IV. Probe	14:00		10:30
V. Probe	16:00		
VI. Probe	22:00		

Tabelle 1: Schematische Darstellung des Versuches

Die folgende Tabelle zeigt die Daten der 25 freiwilligen und gesunden Probanden, die sich bereit erklärt haben an der Studie teilzunehmen.

Proband	Geschlecht	Alter	Gewicht	Größe	BMI
1	W	23	52	160	20,3
2	M	33	79	178	24,9
3	M	31	72	174	23,8
4	W	22	75	176	24,2
5	W	28	62	160	24,2
6	M	25	78	184	23
7	M	29	65	180	20,1
8	W	22	56	165	20,6
9	W	27	71	175	23,2
10	W	26	75	178	23,7
11	W	31	90	161	34,7
12	M	23	74	186	21,4
13	M	25	87	179	27,2
14	M	27	98	180	30,2
15	W	23	66	171	22,6
16	W	24	68	177	21,7
17	W	26	77	186	22,3
18	W	22	58	173	19,4
19	W	24	48	159	19
20	M	33	72	169	25,2
21	W	22	68	170	23,5
22	W	37	80	165	29,4
23	W	24	76	174	25,1
24	M	24	75	177	23,9
25	M	34	90	186	26

Tabelle 2: Probandendaten

2.3 Probenentnahme und -verarbeitung

Die Blutproben wurden aus den peripheren Armvenen der Probanden entweder durch einen Nadelstich oder durch den Einsatz einer peripheren Venenverweilkanüle entnommen. Die Blutproben wurden unverzüglich nach der Entnahme mit einem Klebeetikett versehen, auf welchem die Probandennummer, das Geburtsdatum des Probanden und die exakte Uhrzeit der Probenentnahme vermerkt waren, um Probenvertauschungen zu vermeiden. Die Blutproben wurden direkt nach der Blutentnahme bei ca. +4° Celsius kühl gelagert. Die Blutproben wurden nach 24 Stunden im Labor zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde das Serum aus dem Vollblut der Blutentnahme abgetrennt.

Proband	Teilnahmedatum	Reduktionsfaktor [1]	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (cm)	Alk-Menge/Tag (g l., 7. Tag)	Alk-Menge/Tag (g 3. Tag)	Getrunkenere Menge (1. Tag ml)	Getrunkenere Menge (2. Tag ml)	Getrunkenere Menge (3. Tag ml)	Art des Alkoholisches Getränks am 1. Tag	Art des Alkoholisches Getränks am 2. Tag	Art des Alkoholisches Getränks am 3. Tag
1	16.02-18.02.13	0,6	W	23	52	160	59	29,5	1000 ml Bier, 50 ml Wodka	1000 ml Bier, 50 ml Wodka	750 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
2	16.02-18.02.13	0,7	M	33	79	178	87	43,5	1000 ml Bier, 132 ml Wodka	1000 ml Bier, 132 ml Wodka	1000 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
3	16.02-18.02.13	0,7	M	31	72	174	81	40,5	1500 ml Bier, 50 ml Wodka	1500 ml Bier, 50 ml Wodka	1000 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
4	16.02-18.02.13	0,6	W	22	75	176	75	37,5	200 ml Wodka	75 ml Wodka, 50 ml Wein	50 ml Wodka, 500 ml Bier	Wodka (40%)	Wodka (40%), Wein (12%)	Bier (5%), Wodka (40%)
5	16.02-18.02.13	0,6	W	28	62	160	66	33	150 ml Wodka	120 ml Wodka, 80 ml Wein	375 ml Bier, 50 ml Wodka	Wodka (40%)	Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)
6	16.02-18.02.13	0,7	M	25	78	184	86	43	2000 ml Bier	1750 ml Bier, 50 ml Wodka	1250 ml Bier	Bier (5%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
7	16.02-18.02.13	0,7	M	29	65	180	76	38	238 ml Wodka	238 ml Wodka	120 ml Wodka,	Wodka (40%)	Wodka (40%)	Wodka (40%)
8	16.02-18.02.13	0,6	W	22	56	165	62	31	190 ml Wodka	190 ml Wodka	35 ml Wodka, 500 ml Bier	Wodka (40%)	Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)
9	16.02-18.02.13	0,6	W	27	71	175	72	36	1500 ml Bier, 30 ml Wodka	1500 ml Bier, 30 ml Wodka	50 ml Wodka, 375 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)
10	16.02-18.02.13	0,6	W	26	75	178	75	37,5	2000 ml Bier	1000 ml Bier, 120 ml Wodka	1000 ml Bier	Bier (5%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
11	16.02-18.02.13	0,6	W	31	90	161	86	43	1500 ml Bier, 80 ml Wodka	200 ml Wodka, 200 ml Wein	50 ml Wodka, 100 ml Wein	Bier (5%), Wodka (40%)	Wodka (40%), Wein (12%)	Wodka (40%), Wein (12%)
12	16.02-18.02.13	0,7	M	23	74	186	83	41,5	200 ml Wodka	200 ml Wodka	70 ml Wodka, 500 ml Bier	Wodka (40%)	Wodka (40%), Wein (12%)	Bier (5%), Wodka (40%)
13	23.02-25.02.13	0,7	M	25	87	179	93	46,5	1500 ml Bier, 100 ml Wodka	1500 ml Bier, 100 ml Wodka	50 ml Wodka, 750 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)
14	23.02-25.02.13	0,7	M	27	98	180	102	51	1500 ml Bier, 100 ml Wodka	1500 ml Bier, 100 ml Wodka	1250 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
15	23.02-25.02.13	0,6	W	23	66	171	69	34,5	200 ml Wodka, 25 ml Likör	150 ml Wodka, 50 ml Wein	875 ml Bier	Wodka (40%), Likör (12%)	Wodka (40%), Wein (12%)	Bier (5%)
16	23.02-25.02.13	0,6	W	24	68	177	70	35	1500 ml Bier, 25 ml Wodka	100 ml Wodka, 100 ml Bier	500 ml Bier, 50 ml Wodka	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%), Wodka (40%)
17	23.02-25.02.13	0,6	W	26	77	186	76	38	1500 ml Bier, 50 ml Likör	100 ml Wodka, 100 ml Bier	1000 ml Bier	Bier (5%), Likör (20%)	Bier (5%), Wodka (40%)	Bier (5%)
18	23.02-25.02.13	0,6	W	22	58	173	63	31,5	500 ml Bier, 150 ml Wodka	200 ml Wodka	750 ml Bier	Bier (5%), Wodka (40%)	Wodka (40%)	Bier (5%)
19	23.02-25.02.13	0,6	W	24	48	159	56	28	1500 ml Bier	100 ml Wodka, 250 ml Wein	750 ml Bier	Bier (5%)	Wodka (40%), Wein (12%)	Bier (5%)
20	23.02-25.02.13	0,7	M	33	72	169	81	40,5	2000 ml Bier	2000 ml Bier	1000 ml Bier	Bier (5%)	Bier (5%)	Bier (5%)
21	23.02-25.02.13	0,6	W	22	68	170	70	35	200 ml Wodka, 25 ml Likör	175 ml Wodka, 200 ml Wein	875 ml Bier	Wodka (40%), Likör (12%)	Wodka (40%), Wein (12%)	Bier (5%)
22	23.02-25.02.13	0,6	W	37	80	165	78	39	250 ml Wodka	250 ml Wodka	100 ml Bier, 50 ml Wodka	Bier (5%), Wodka (40%)	Wodka (40%)	Wodka (40%)
23	09.03-11.03.13	0,6	W	24	76	174	75	37,5	250 ml Rum	250 ml Wodka	100 ml Wodka	Rum (37,5%)	Wodka (40%)	Wodka (40%)
24	09.03-11.03.13	0,7	M	24	75	177	83	41,5	250 ml Rum	250 ml Wodka	125 ml Wodka	Rum (37,5%)	Wodka (40%)	Wodka (40%)
25	09.03-11.03.13	0,7	M	34	90	186	95	47,5	2500 ml Bier	300 ml Wodka	1250 ml Bier	Bier (5%)	Wodka (40%)	Bier (5%)

Tabelle 3: Probandendaten

2.4 Messmethode

2.4.1 Ethanolbestimmung in biologischem Material mittels GC-Methode

Die quantitative Bestimmung des Ethanolgehaltes einer Probe erfolgt mittels gaschromatographischem Messverfahren mit Headspace-Probengeber und Flammenionisationsdetektion (HS-GC-FID) (siehe Abbildung 7).

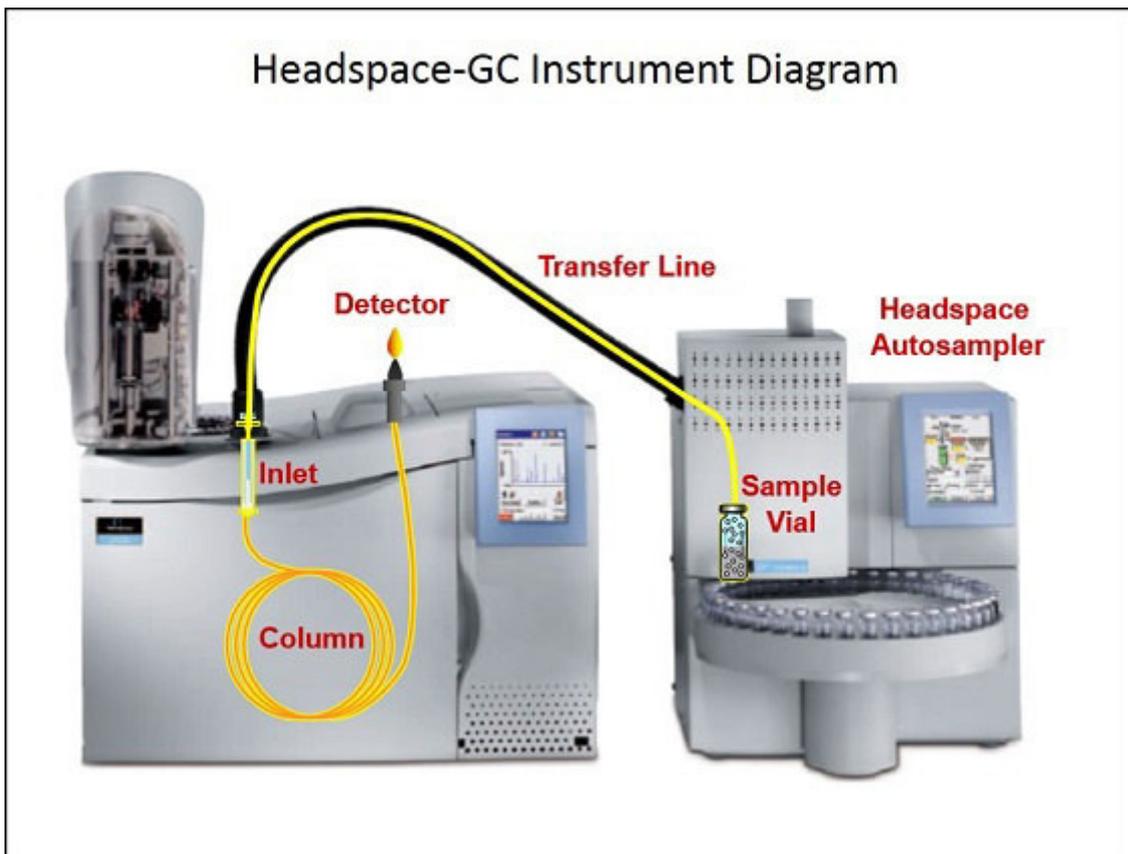


Abbildung 7: Headspace-Probengeber und Flammenionisationsdetektion (Fa. Perkin Elmer)

100 μL der Probandenproben (Serum, Vollblut oder Urin), Kalibratoren und Kontrollen werden mit 500 μL interner Standard-Lösung mit Hilfe eines automatischen Dilutors versetzt. Als interner Standard wird Tertiärbutanol verwendet. Es werden gebrauchsfertige wässrige Kalibratoren sowie Serum- und Vollblut-Qualitätskontrollen der Firmen Medichem und ACQ eingesetzt.

Der Probenansatz wird in einem geschlossenen System erwärmt und die Dampfphase über der Probe analysiert (Headspaceverfahren). Die Konzentration der flüchtigen Substanzen in der Dampfphase ist proportional der Konzentration in der Lösung. Nach

chromatographischer Trennung werden die Analyten mittels Flammenionisationsdetektor quantitativ bestimmt.

Bei den eingesetzten Geräten handelt es sich um GC HP 5890 (Clarus 500) mit Headspace Sampler Turbo Matrix 110 (siehe Abbildung 8 und 9)

Die erhaltenen Messergebnisse in g/L werden entsprechend der Richtlinien zur Blutalkoholbestimmung unter Berücksichtigung des Serums/Plasma- bzw. Vollblut-Faktors und der Dichte des Ethanol in Promillekonzentration [g/kg Vollblut] umgerechnet und geschnitten.



Abbildung 8; GC HP 5890 (Clarus 500) (Fa. Perkin Elmer)



Abbildung 9: Headspace Sampler Turbo Matrix 110 (Fa. Perkin Elmer)

2.4.2 ETG-Analyse und Vorbereitung der Probe

Die Serumproben wurden durch Ausfällung mit Acetonitril extrahiert. Die organische Phase wurde in einem Röhrchen übertragen und unter einem Stickstoffstrahl getrocknet und mit einem Endvolumen von 100 µl Rekonstitutionspuffer wiederhergestellt.

Flüssigkeitschromatographie/Tandem-Massenspektrometer (LC-MS/MS)

Die Analyse wurde in einer Umkehrphasen-Chromatographie ausgeführt, gekoppelt an einem Tandem-Massenspektrometer. Die Flüssigkeitschromatographie wurde in einem HP1200 HPLC System (siehe Abbildung 10) ausgeführt. Diese war an einem dreifachen Quadrupol-Massenspektrometer mit einer Elektrospray Ionenquelle gekoppelt (siehe Abbildung 10 und 11).



Abbildung 10: HP1200 HPLC system-Agilent Technologies (Fa. Perkin Elmer)

Die chromatographische Trennung wurde an einem LUNA C8 column (4,6*250 mm, 5 µm) unter Verwendung einer mobile Phase A (Wasser, 5% Acetonitril, 2mM Ammonium-Azetat) und einer mobile Phase B (Methanol, 5mM Ammonium-Formiat; pH 3,5) in einem isocratic Programm mit einem Gesamtdurchfluss von 1100 µl/min (binaries System): 0-5 min: 70% A erreicht.

Ausgehend von Molekülonen mit positiver ($[M+H]^+$) bzw. negativer ($[M-H]^-$) Ladung werden jeweils mehrere Fragmentierungsreaktionen überwacht (MRM). Für die Quantifizierung wurden die Gipfel der Flächenverhältnisse der Analyte zum internen Standard als eine Funktion der Substanzen berechnet.

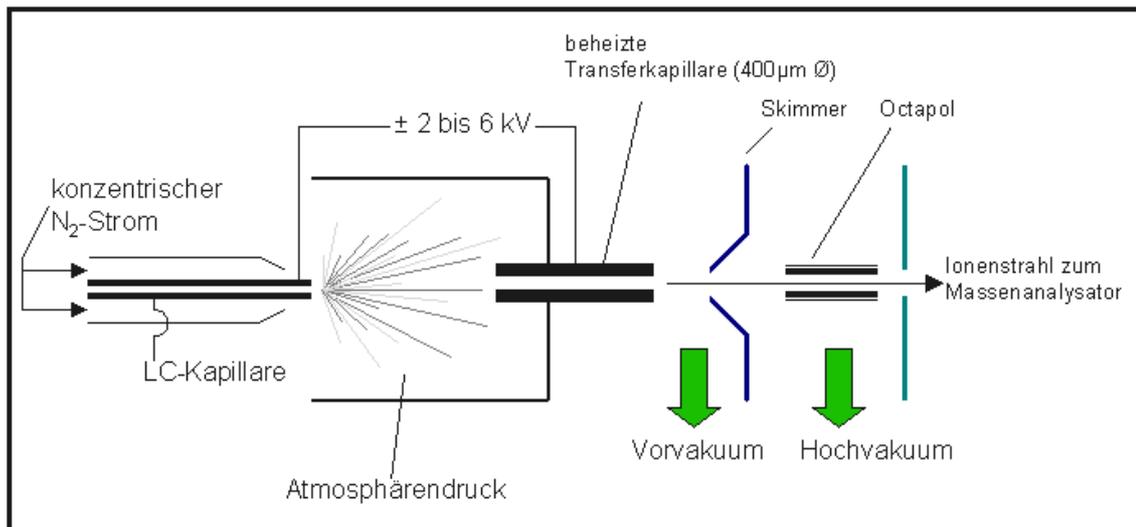


Abbildung 11: Elektrosprayionisation [46]

2.5 LC-MS/MS- Was ist das eigentlich?

„Hinter der Abkürzung LC-MS/MS (Liquid-Chromatographie/Massenspektrometrie) verbirgt sich ein äußerst zeitgemäßes, modernes Analysen-/Detektionsverfahren (siehe hierzu auch LCI-Focus 07/08.02 „Massenspektrometrie – Technik für die Spurenanalytik“). Durch Nacheinander schalten von mehreren Massenspektrometer-Einheiten ergibt sich eine Kopplungsmöglichkeit, die Tandem-MS oder auch MS/MS genannt wird. Diese ist an einem chromatographischen Trennsystem, hier die Flüssigchromatographie (LC), gekoppelt“ [32].

„Die Kopplung ermöglicht eine exakte Identifizierung und Quantifizierung sowohl von reinen Substanzen als auch von Substanzgemischen. Vor allem der Aspekt der Schnelligkeit ist ein großer Vorteil der MS/MS. So können Messungen innerhalb von Millisekunden durchgeführt werden. Durch die verschiedenen Trennsystemarten der Massenspektrometrie ergeben sich auch zahlreiche Aufbaukombinationen der MS/MS-Geräte“ [32].

2.5.1 Aufbau eines LC-MS/MS-Systems

„Das erste MS (Ion selektieren) zeigt den gesamten Massenbereich an und je nach Analyt, wird eine Masse ausgewählt und abgetrennt. Diese wird in einer Stoßkammer (Fragmentieren) einem „Zerkleinerungsprozess“ unterworfen, bevor die zahlreichen Bruchstücke von dem letzten MS (spezifische Bruchstücke) bestimmt werden (siehe Abbildung 11). Anhand dieses Fragmentierungsmusters kann eine Substanz gezielt selektiv identifiziert werden“ [32].

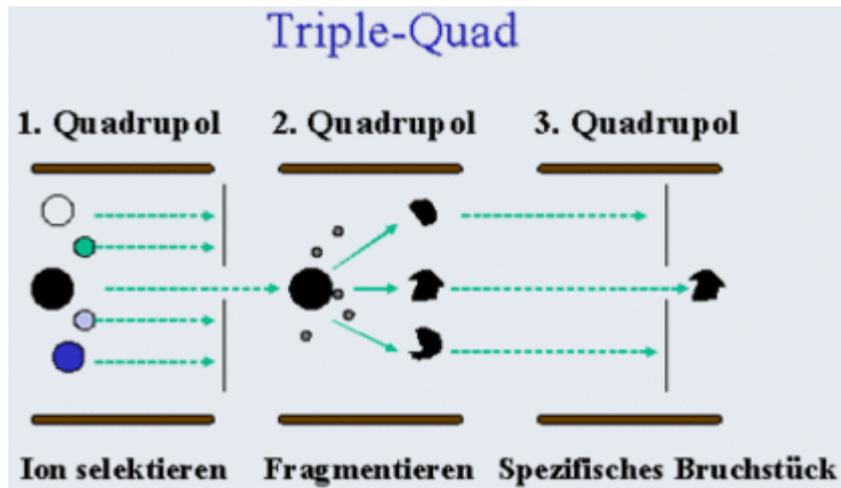


Abbildung 12: Triple-Quad-Darstellung [32]

„Üblich ist eine LC-MS/MS-Kopplung mit einem sog. ESI-Interface (Electrospray-Interface, d. h. die Vernebelung der flüssigen Probe erfolgt in ein Hochspannungsfeld mit einigen kV hinein). Das Tandem-MS umfasst meist drei Quadrupole – auch Triple-Quad genannt (siehe Abbildung 12). Wobei nur beim Ersten und beim Dritten eine Messung erfolgt. Der mittlere Quadrupol (Stoßkammer) dient zum Zerspalten des vorher ausgesuchten Analyten“ [32].

„Quadrupol-Trennsysteme bestehen aus vier Stabmagneten. Durch die Anlegung von Spannungen werden Moleküle einer ganz bestimmten Masse beschleunigt, durch den Stabzwischenraum durchgeschleust und ausgefiltert. Unerwünschte Ionen werden neutralisiert und können damit nicht detektiert werden. Durch Veränderung des elektrischen Feldes ist es sogar möglich, ein Abtasten des gesamten Spektrums zu erreichen, welches das erste MS im Tandem-Gerät übernimmt“ [32].

„Das ESI-Interface ist das Verbindungsstück zwischen der handelsüblichen HPLC-Anlage und dem Tandem-MS. Hier wird das zu untersuchende Stoffgemisch verdampft und ionisiert. Außerdem wird das für die LC notwendige Fließmittel weitestgehend entfernt“ [32].

3 Ergebnisse

Die graphische und rechnerische Darstellung und Auswertung erfolgte über ein Excel-Programm basierend auf der Publikation von Dr. Detlef Thieme, Dr. Hans Sachs und Prof. Dr. Matthias Graw [45].

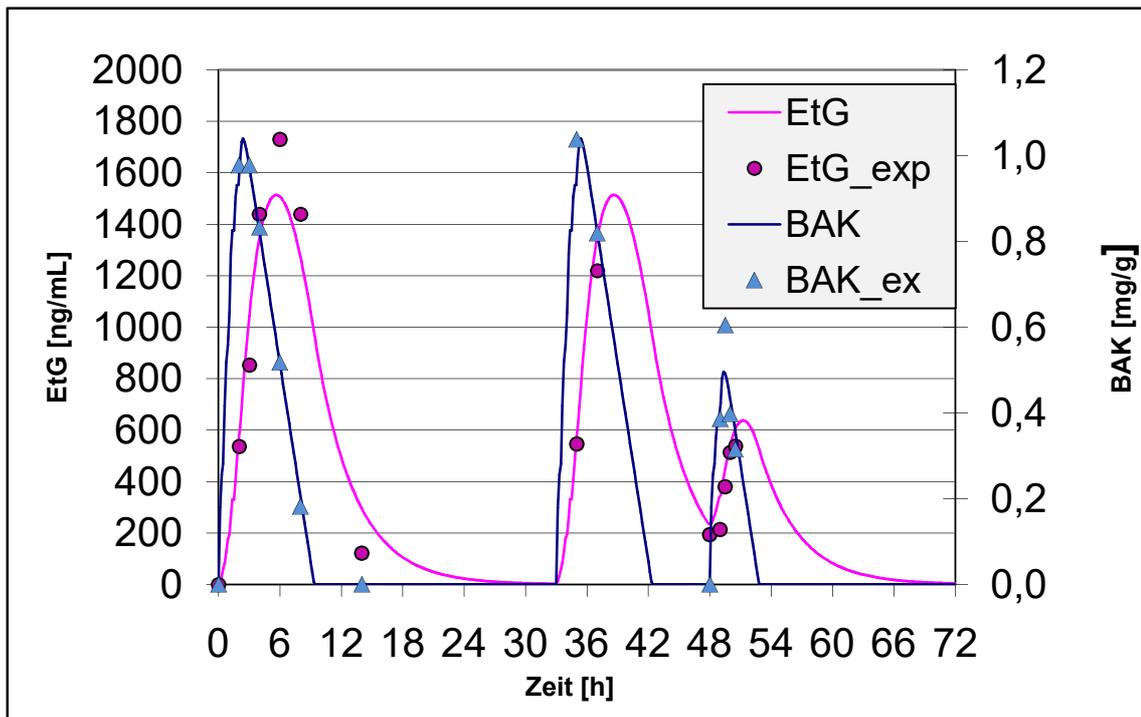


Abbildung 13: Verlauf von EtG und BAK Konzentrationen sowie deren Korrelation

Das Liniendiagramm in Abbildung 13 demonstriert den Verlauf von EtG und BAK Konzentrationen sowie deren Korrelation. Diese Kurven verdeutlichen die Invasion bzw. Elimination von Alkohol und EtG.

Auf der X-Achse ist die Zeit (t) und auf der Y-Achse das EtG (ng/ml) bzw. BAK (mg/g) aufgeführt.

Die Koordinatenpunkte mit den blauen Dreiecken stellen jeweils die empirischen BAK-Werte dar und die Koordinatenpunkte mit den roten Kreisen zeigen die empirischen EtG-Werte im Blut in Abhängigkeit von der Zeit an.

In diesen beiden Abbildungen sind 3 blaue Maxima und 3 rote Maxima dargestellt.
1.Maxima: Tag 1, 2.Maxima: Tag 2, 3.Maxima: Tag 3

Die blauen und roten Maxima zeigen den parallelen Verlauf von EtG und BAK Konzentrationen aus dem Serum von einem Probanden über alle drei Versuchstage unter Berücksichtigung des Körpergewichts und der Reduktionsfaktoren RD1, RD2 und RD3. (siehe Tabelle4)

Proband	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
RD1	0,10	0,00	0,00	0,10	0,10	0,10	0,00	0,23	0,00	0,30	0,10	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,10	0,10	0,10	0,00
RD2	0,40	0,20	0,00	0,10	0,00	0,20	0,10	0,22	0,00	0,30	0,50	0,00	0,30	0,05	0,00	0,20	0,40	0,20	0,30	0,00	0,10	0,20	0,23	0,25	0,20
RD3	0,50	0,10	0,30	0,00	0,20	0,20	0,20	0,25	0,07	0,30	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,01	0,00	0,00	0,30	0,00	0,30	0,10
Elimination_EtOH [mg/g/h]	0,14	0,13	0,18	0,25	0,17	0,15	0,12	0,26	0,15	0,17	0,14	0,09	0,15	0,11	0,15	0,14	0,14	0,15	0,14	0,15	0,24	0,14	0,21	0,15	0,14
Elimination_EtG [h-1]	0,27	0,25	0,49	0,29	0,19	0,29	0,24	0,25	0,23	0,20	0,32	0,59	0,15	0,26	0,41	0,14	0,14	0,18	0,48	0,26	0,27	0,25	0,28	0,25	0,33

Tabelle 4: Probandendaten

Die blaue Kurve zeigt drei Phasen: die Resorption-, die Verteilung-, die Plateau- und die Eliminationsphase von Alkohol.

Grundsätzlich war in allen Fällen einer Alkoholbelastung ein Anstieg der EtG zu beobachten. Der Anstieg der BAK-Kurve in der Resorptionsphase verläuft steiler als die der EtG-Kurve. Die BAK-Werte-Kurve verläuft in der Eliminationsphase linear, während die EtG-Kurve eher exponentiell abfällt bzw. eliminiert wird. In den Abbildungen kann man genau beobachten, dass der Abfall der BAK-Kurve rascher erfolgt als die Kurve des EtG.

Aus der Tabelle 5 können die Werte der Ethanol-Invasion und -Elimination sowie die Werte der EtG-Invasion und -Elimination aller Probanden entnommen werden.

Pro.	Gesch.	BMI	Invas._ EtOH [h-1]	Elimin._EtOH [mg/g/h]	Invas._EtG [(ng/mL)/(mg/g)*h-1]	Elimin._EtG [h-1]
1	W	20,3	10,67	0,14	294,00	0,27
2	M	24,9	5,51	0,13	435,89	0,25
3	M	23,8	23,56	0,18	695,66	0,49
4	W	24,2	304,82	0,25	646,01	0,29
5	W	24,2	19,17	0,17	395,77	0,19
6	M	23	40,70	0,15	797,93	0,29
7	M	20	2,68	0,12	468,13	0,24
8	W	20,6	11,35	0,26	515,12	0,25
9	W	23,2	5,70	0,15	615,83	0,23
10	W	23,7	9,12	0,17	455,94	0,20
11	W	34,7	26,19	0,14	418,94	0,32
12	M	21,4	163,85	0,09	1626,85	0,59
13	M	27,2	22,40	0,15	357,50	0,15
14	M	30,2	4,90	0,11	662,11	0,26
15	W	22,6	1,78	0,15	802,91	0,41
16	W	21,7	3,21	0,14	277,88	0,14
17	W	22,3	7,13	0,14	472,99	0,14
18	W	19,4	2,46	0,15	472,60	0,18
19	W	18,9	3,33	0,14	449,59	0,48
20	M	25,2	4,77	0,15	685,56	0,26
21	W	23,5	3,13	0,24	635,94	0,27
22	W	29,4	3,83	0,14	628,93	0,25
23	W	24,5	24,45	0,21	674,33	0,28
24	M	23,9	26,95	0,15	544,59	0,25
25	M	26	4,76	0,14	980,20	0,33

Tabelle 5: Invasion und Elimination von EtOH und EtG (Proband 4 und 12 zeigen erhöhte Werte, da beide bei der Nüchtern-Probe bereits erhöhte EtG-Werte aufwiesen)

Für alle männlichen Probanden wurde eine EtG-Eliminationskonstante von $0,31\text{h}^{-1} \pm 0,112$ (Mittelwert/Standardabweichung) ermittelt, die im Mittel einer Halbwertszeit von $t_{1/2}=1,1\text{h}$ entspricht.

Für die weiblichen Probanden wurde eine EtG-Eliminationskonstante von $0,26\text{h}^{-1} \pm 0,114$ (Mittelwert/Standardabweichung) gefunden, die im Mittel einer Halbwertszeit von $t_{1/2}=1,5\text{h}$ entspricht.

Aus dem Vergleich geht hervor, dass die Elimination von EtG bei den weiblichen Probanden um ca. 16 % niedriger ist als bei den männlichen Probanden. Das heißt, dass die EtG Kurve flacher verläuft und somit EtG länger im Blut nachweisbar ist als bei den männlichen Probanden. In den folgenden Abbildungen wurde zwischen männlichen und weiblichen Probanden differenziert. In den Abbildungen 14,15,16 und 17 ist die Invasion und Elimination von EtOH sowie EtG beider Geschlechter dargestellt.

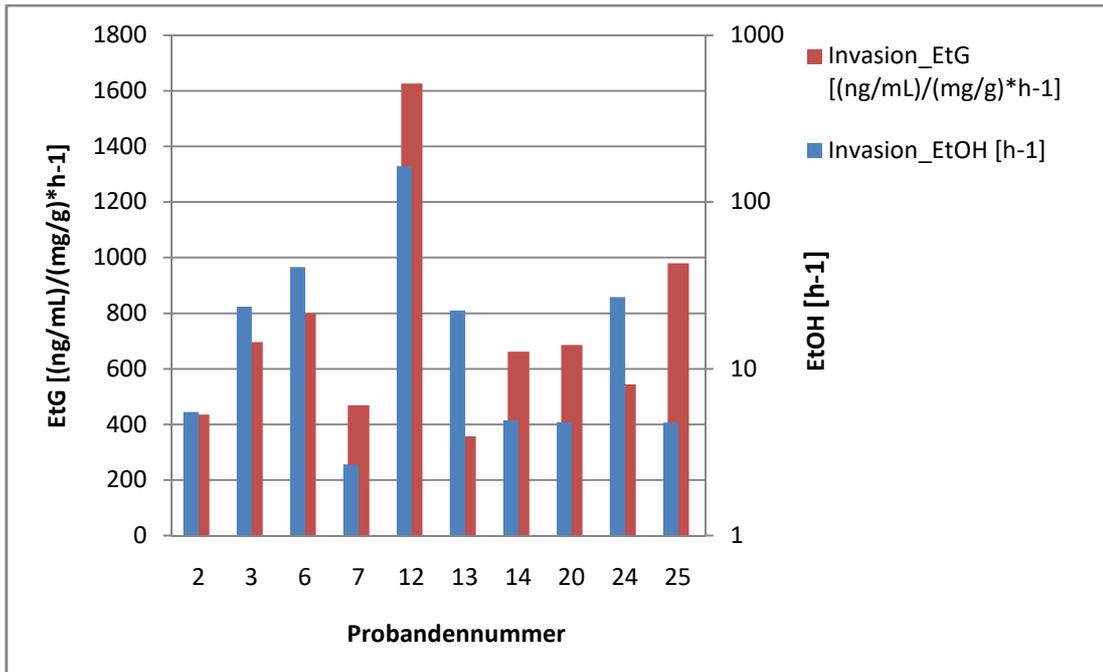


Abbildung 14: Invasaion von EtG und EtOH bei den männlichen Probanden

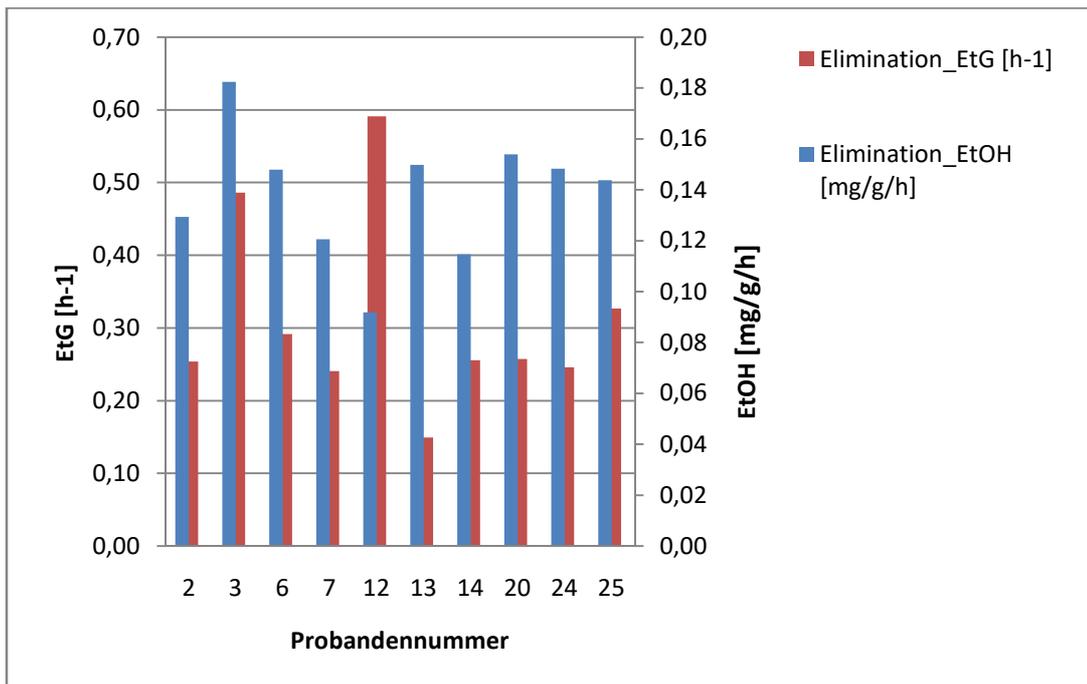


Abbildung 15: Elimination von EtG und EtOH bei den männlichen Probanden

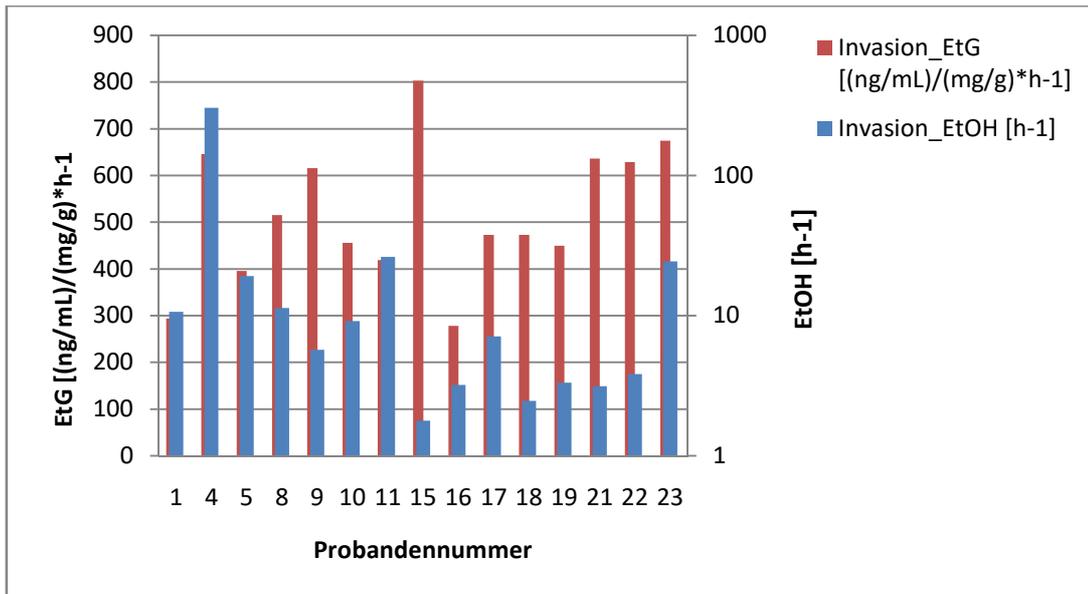


Abbildung 16: Invasion von EtG und EtOH bei den weiblichen Probanden

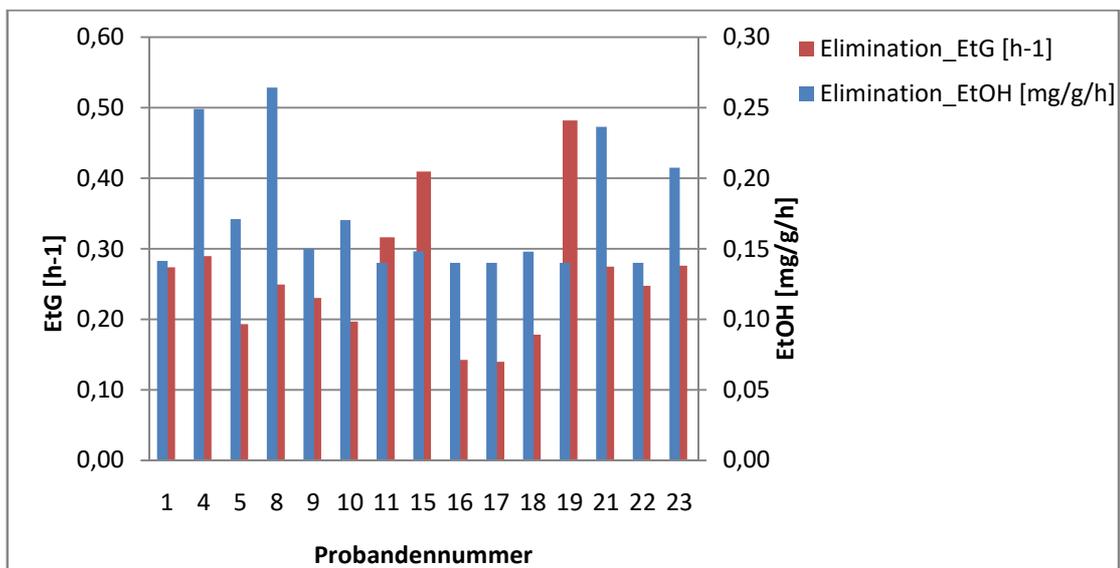


Abbildung 17: Elimination von EtG und EtOH bei den weiblichen Probanden

Aus diesem Vergleich kann entnommen werden, dass bei den Probanden 4 und 12 die Eliminationskonstanten um ein Vielfaches des Mittelwertes aller Probanden erhöht sind. Diese Ausreißer kommen dadurch zustande, dass die Probanden am ersten Versuchstag bei der Nüchternprobe bereits einen erhöhten EtG-Wert aufwiesen. Dies zeigt eine non-compliance der beiden Probanden.

- Proband 4 mit einem EtG-Wert von 758 mg/g/h
- Proband 12 mit einem EtG-Wert von 2660 mg/g/h

Probandin 15 weist im Balkendiagramm (siehe Abbildung 15 und 16) im Gegensatz zu anderen Probanden ein Peak-Maximum der EtG-Invasion und EtG-Elimination. Nach genauerer Analyse hat sich herausgestellt, dass die Versuchsperson an allen drei Versuchstagen gleiche Promille-Werte zeigt.

1. Versuchstag: 0,57 ‰
2. Versuchstag: 0,45 ‰
3. Versuchstag: 0,57 ‰

Es gibt keine fassbare Erklärung für diese Ergebnisse. Eine mögliche Hypothese könnte das unkontrollierte Trinken und Vermischen von unterschiedlichen Alkoholsorten sein (Siehe Tabelle 3).

Diese Unregelmäßigkeiten können in weiteren Untersuchungen durch kontrollierte Alkoholmengenausgaben an den Probanden vermieden werden sowie durch kleinere Versuchsgruppen erreicht werden.

Proband 19 zeigt ein Peak-Maximum in der Abbildung 16. D.h. eine erhöhte EtG-Elimination gegenüber den anderen Probanden. Die genauere Analyse der Daten zeigen, dass der Proband 19 am 2. Versuchstag ca. die Hälfte des Promille-Wertes – bei gleicher Menge an Alkohol – aufweist.

1. Versuchstag: 0,92 ‰
2. Versuchstag: 0,55 ‰
3. Versuchstag: 0,52 ‰

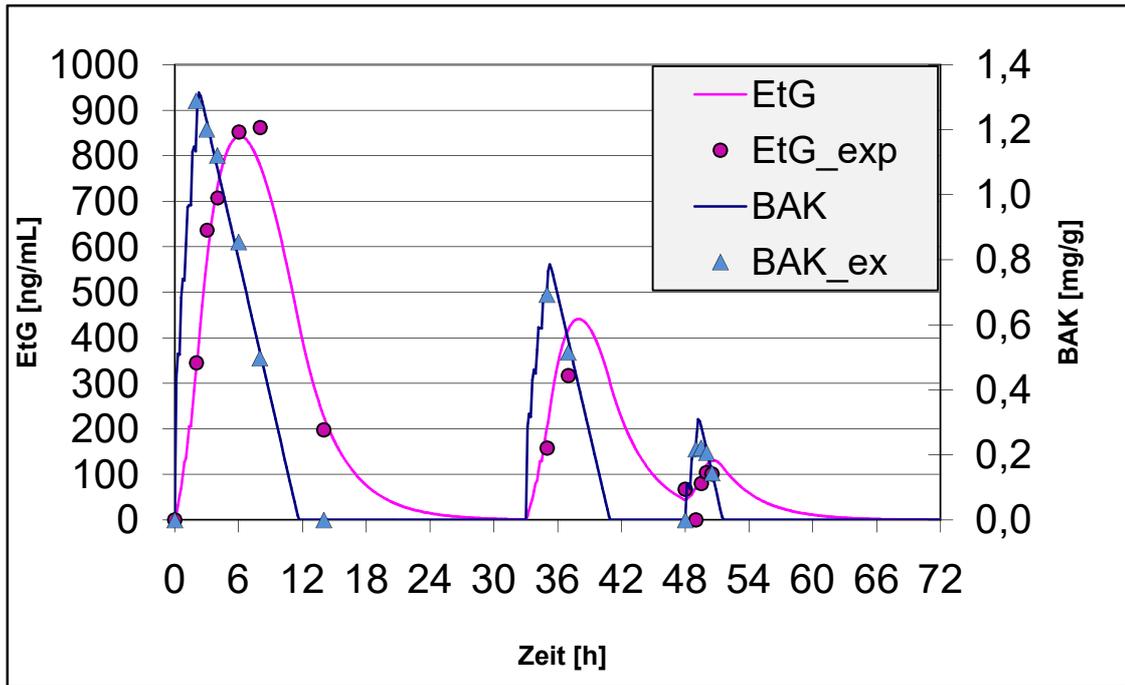


Abbildung 18: BAK- und EtG-Verlauf Proband 1

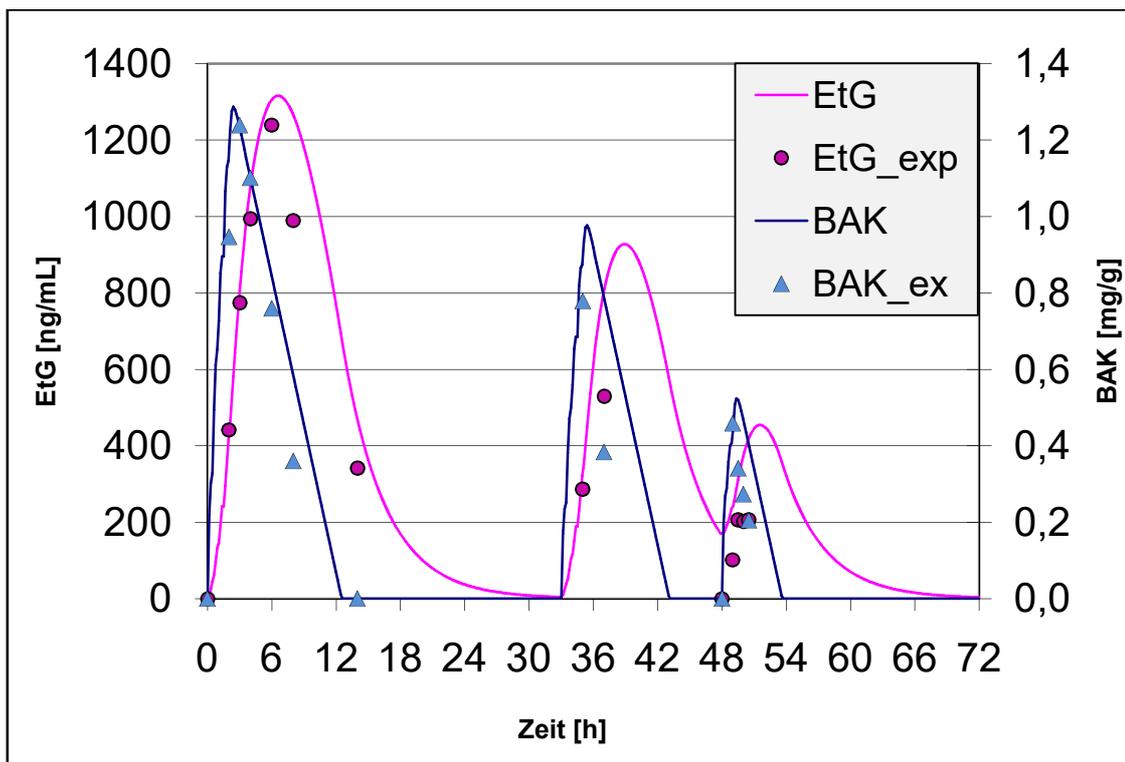


Abbildung 19: BAK- und EtG-Verlauf Proband 2

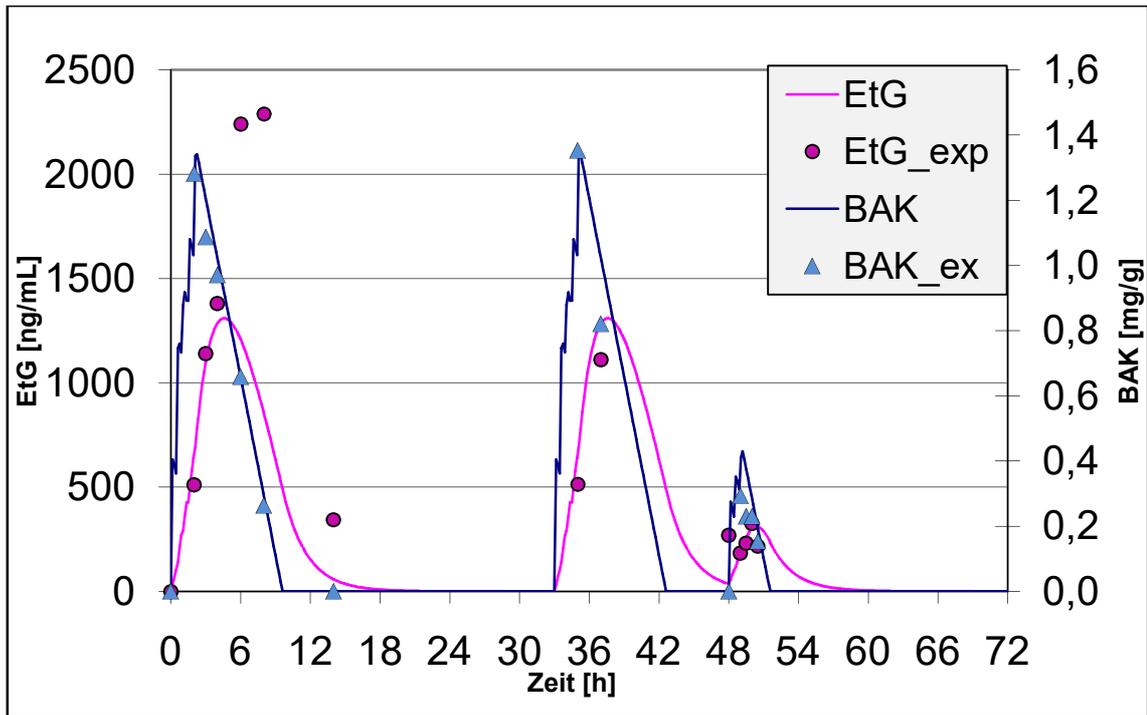


Abbildung 20: BAK- und EtG-Verlauf Proband 3

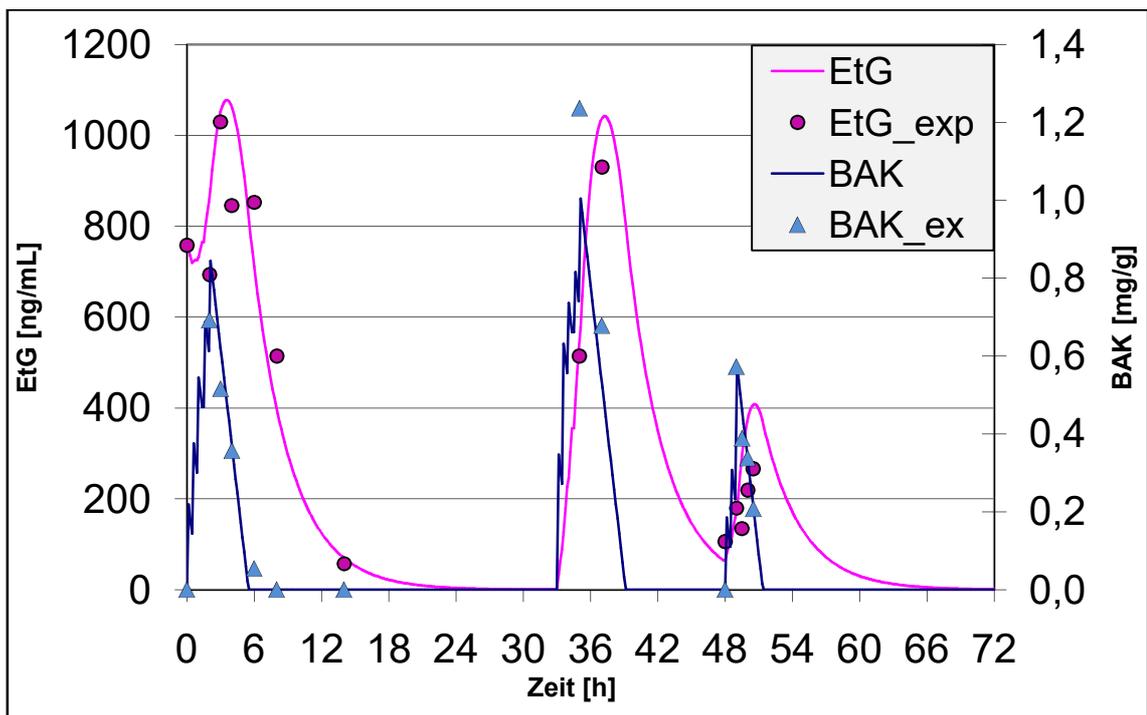


Abbildung 21: BAK- und EtG-Verlauf Proband 4

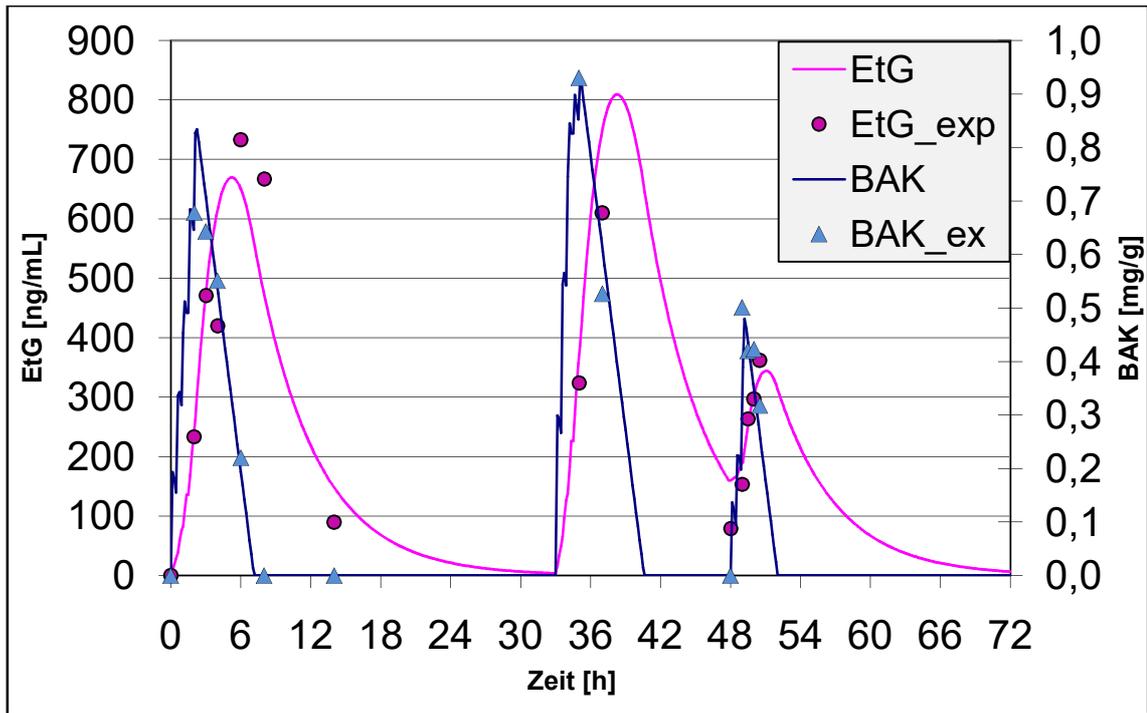


Abbildung 22: BAK- und EtG-Verlauf Proband 5

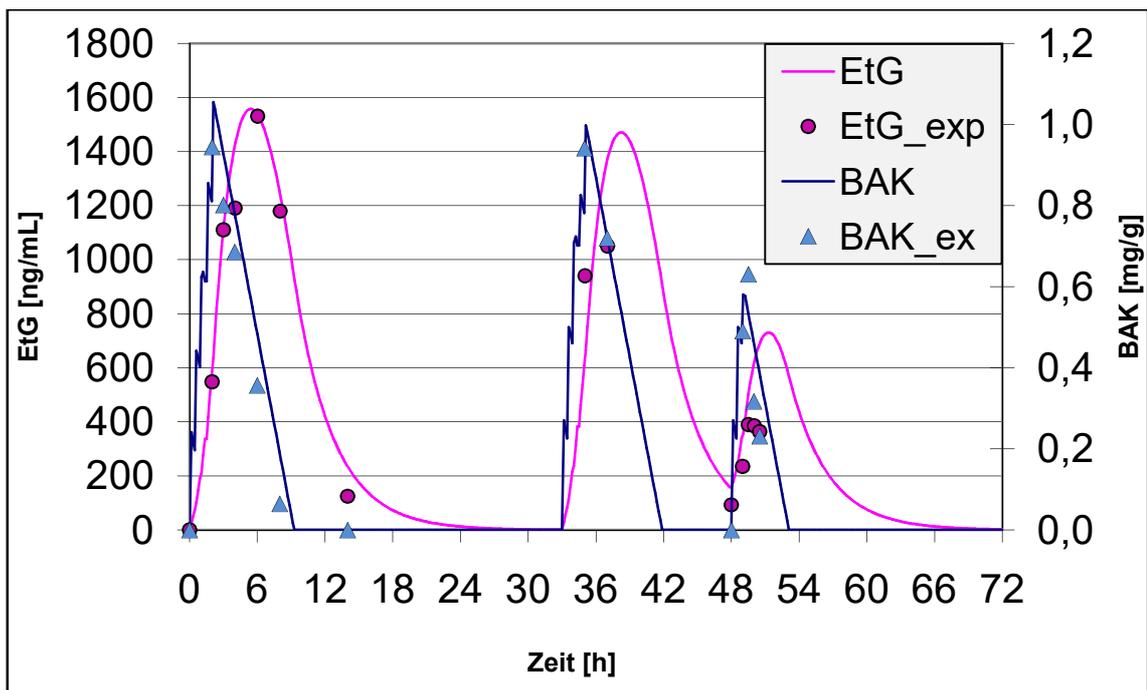


Abbildung 23: BAK- und EtG-Verlauf Proband 6

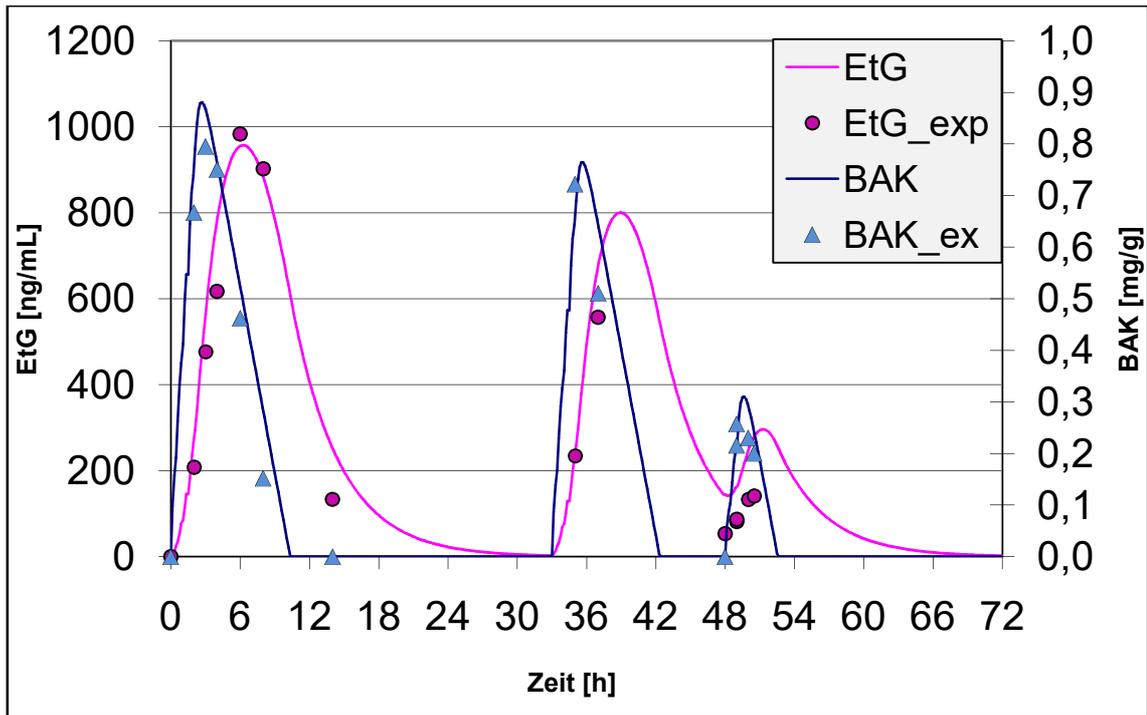


Abbildung 24: BAK- und EtG-Verlauf Proband 7

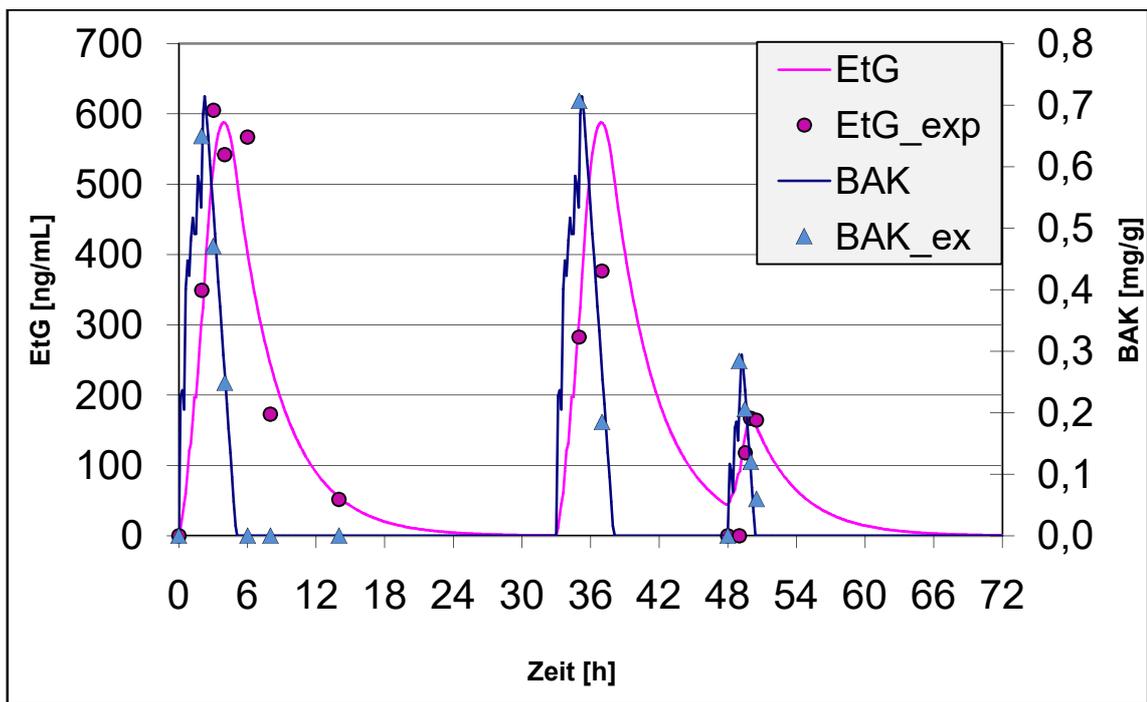


Abbildung 25: BAK- und EtG-Verlauf Proband 8

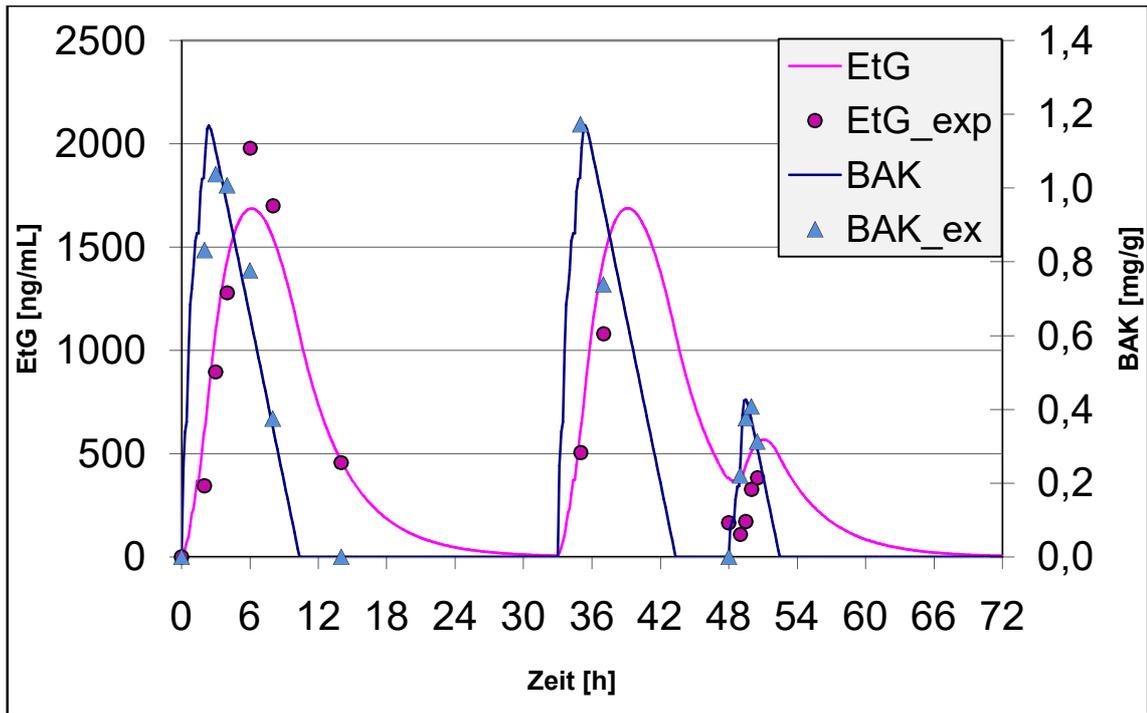


Abbildung 26: BAK- und EtG-Verlauf Proband 9

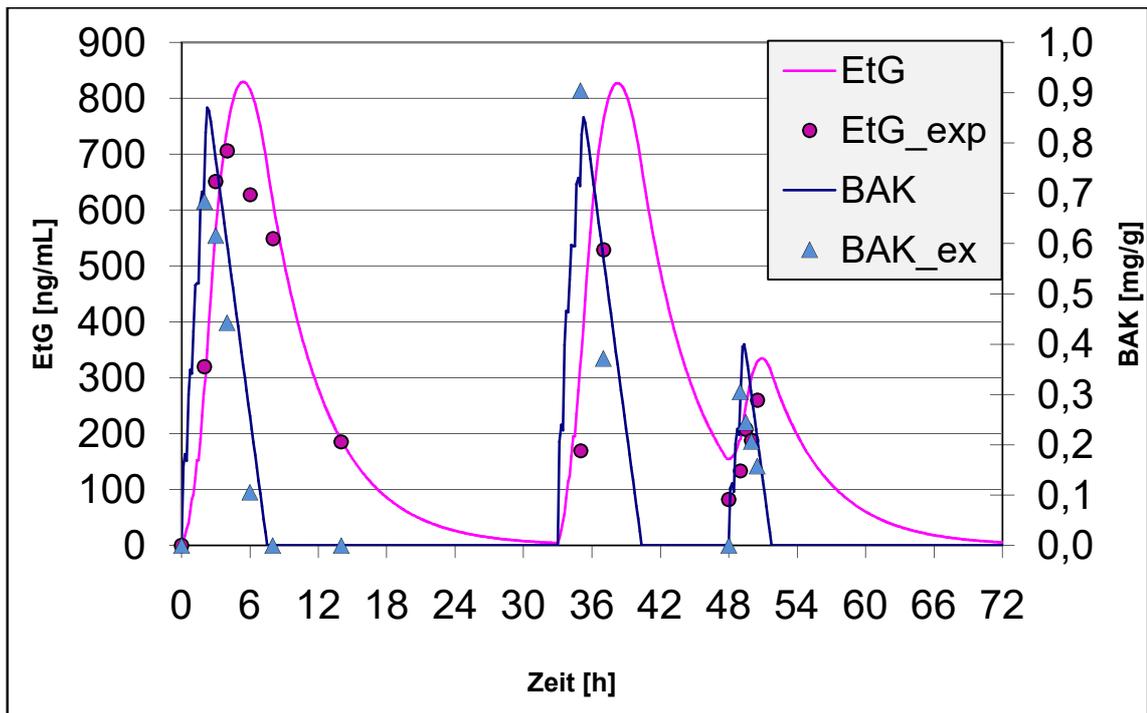


Abbildung 27: BAK- und EtG-Verlauf Proband 10

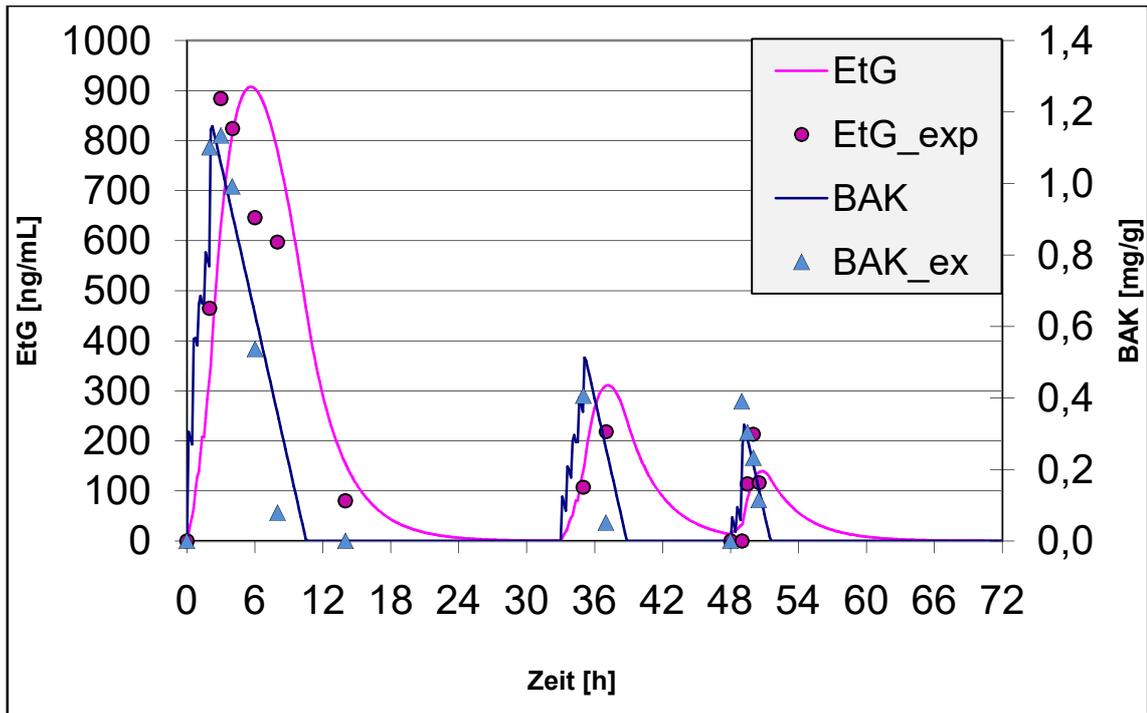


Abbildung 28: BAK- und EtG-Verlauf Proband 11

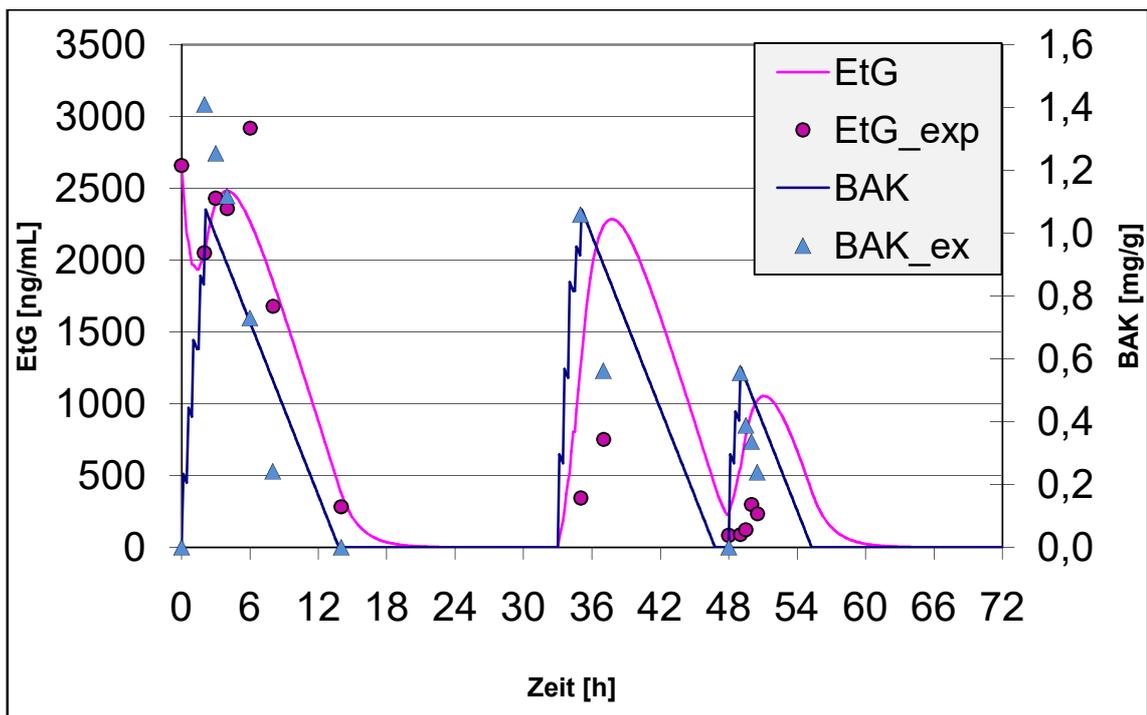


Abbildung 29: BAK- und EtG-Verlauf Proband 12

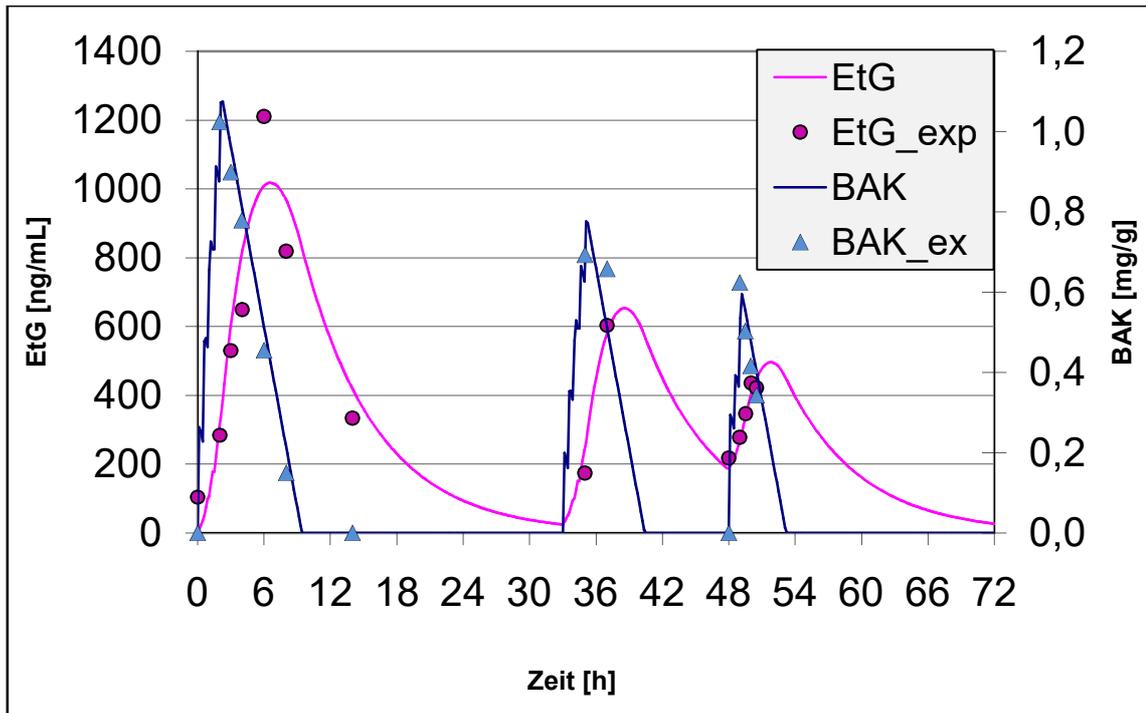


Abbildung 30: BAK- und EtG-Verlauf Proband 13

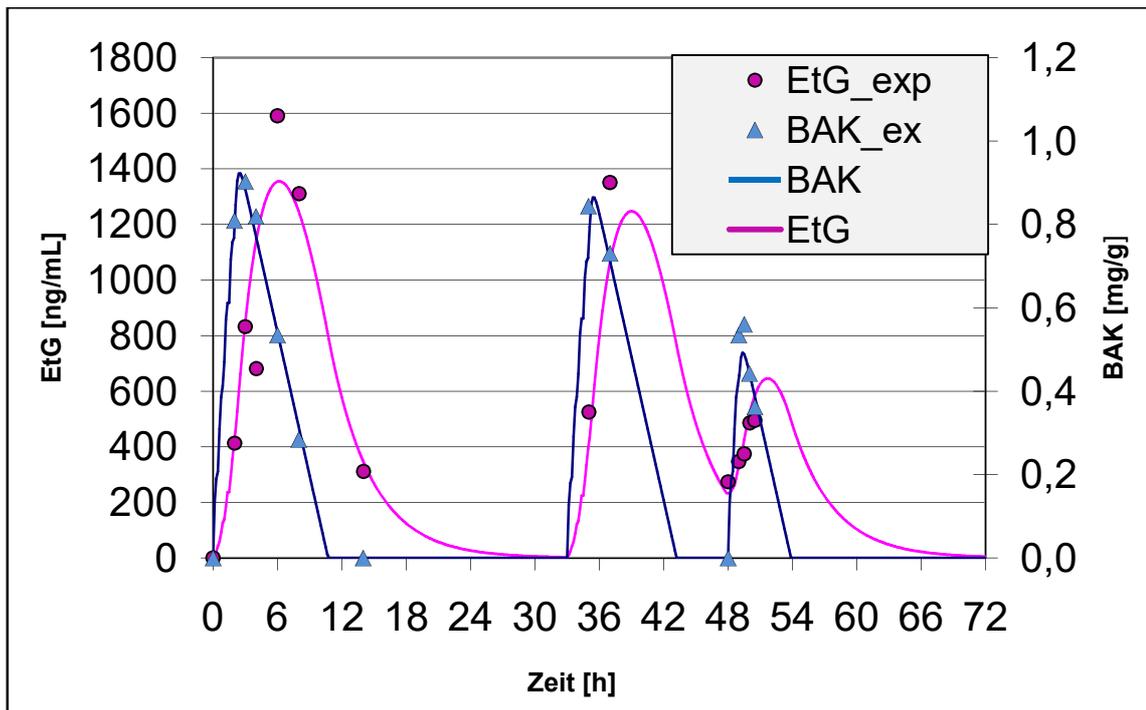


Abbildung 31: BAK- und EtG-Verlauf Proband 14

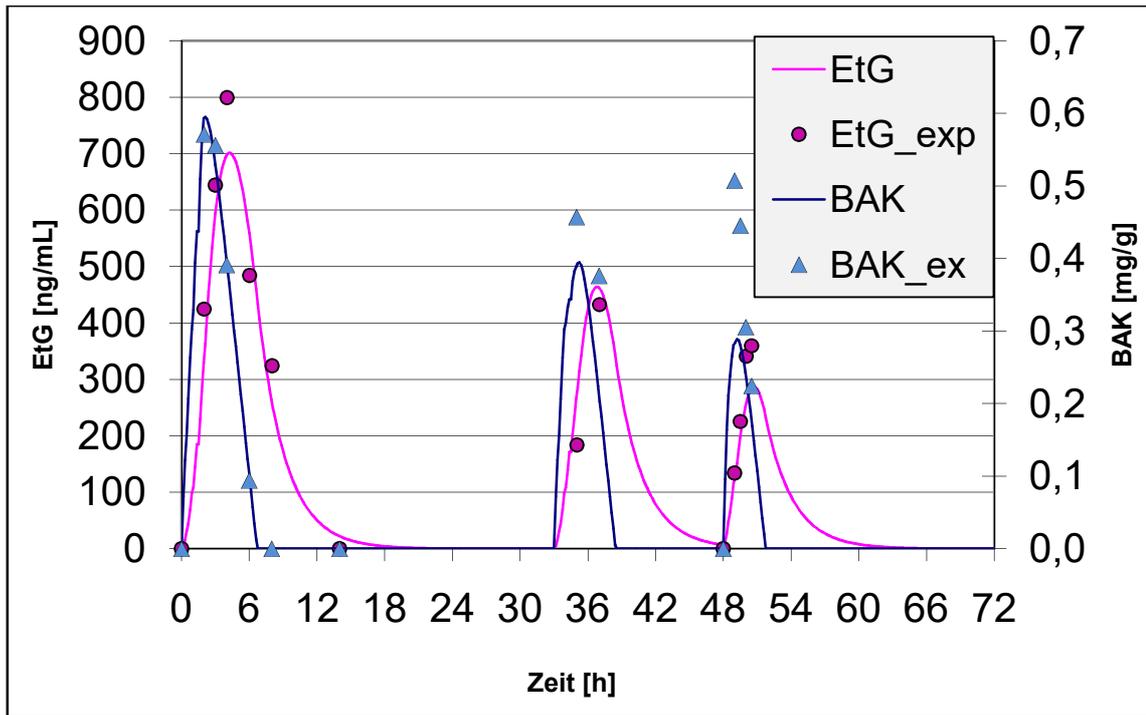


Abbildung 32: BAK- und EtG-Verlauf Proband 15

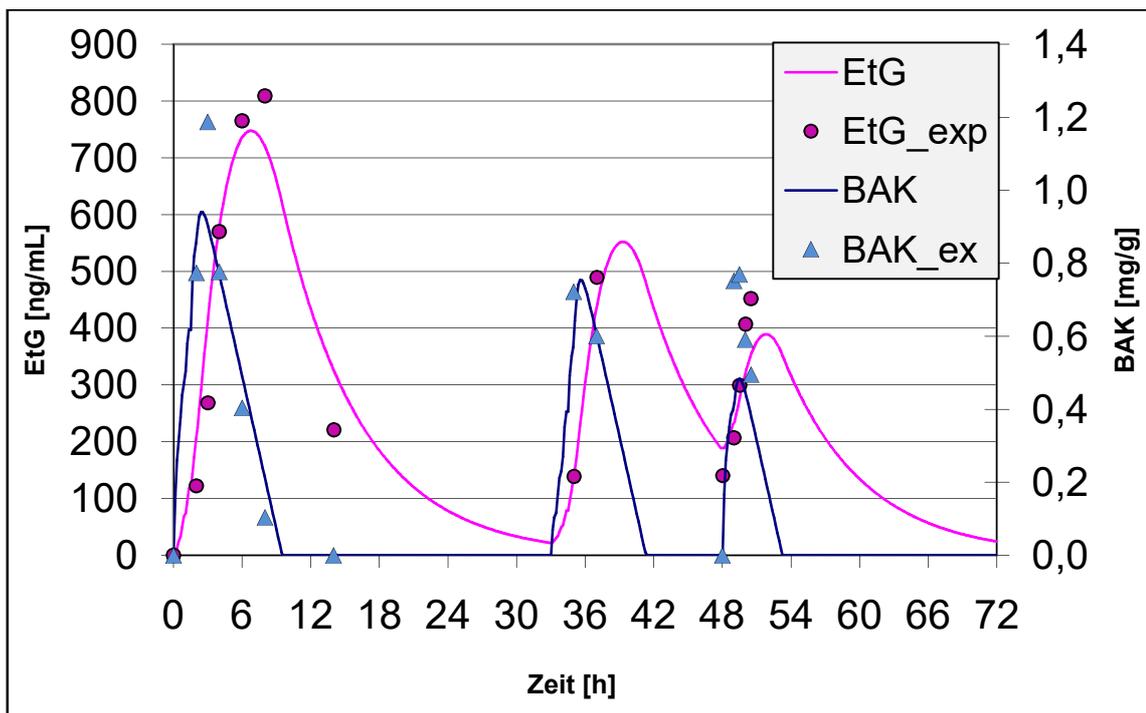


Abbildung 33: BAK- und EtG-Verlauf Proband 16

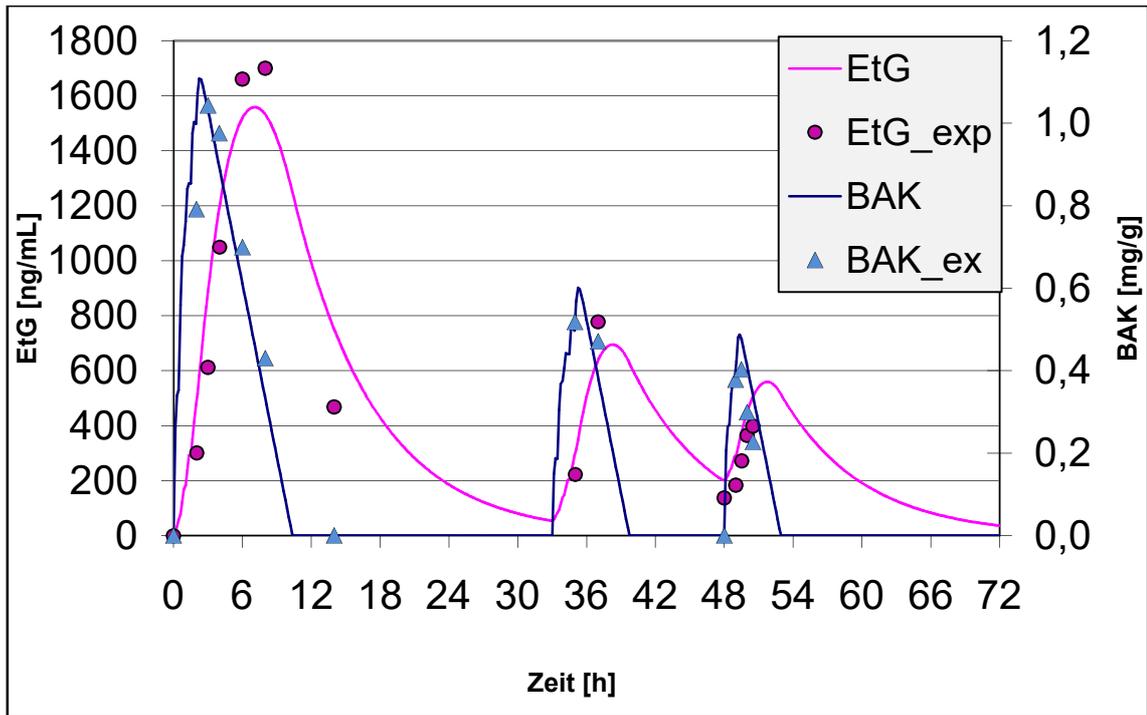


Abbildung 34: BAK- und EtG-Verlauf Proband 17

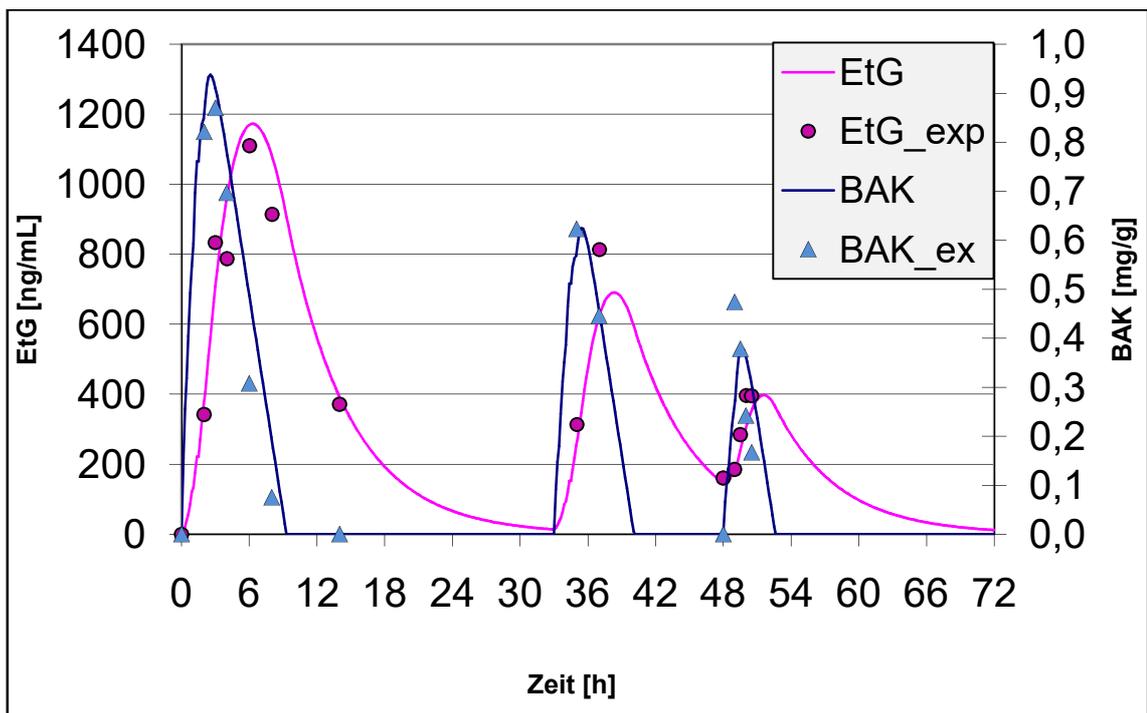


Abbildung 35: BAK- und EtG-Verlauf Proband 18

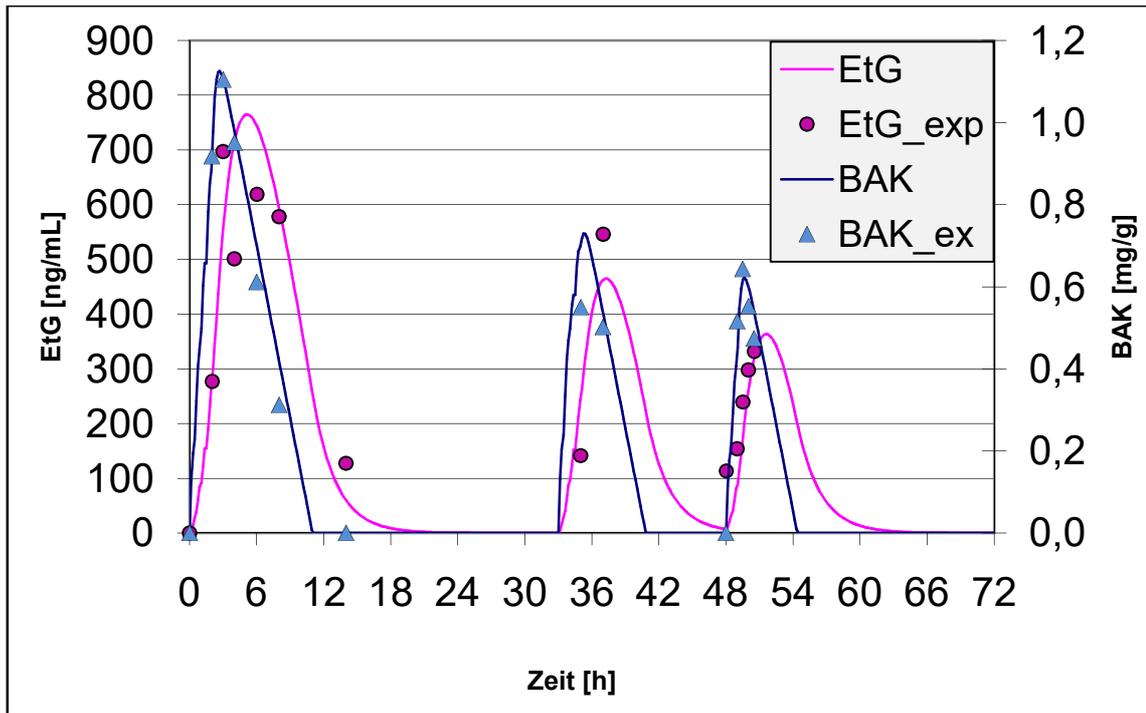


Abbildung 36: BAK- und EtG-Verlauf Proband 19

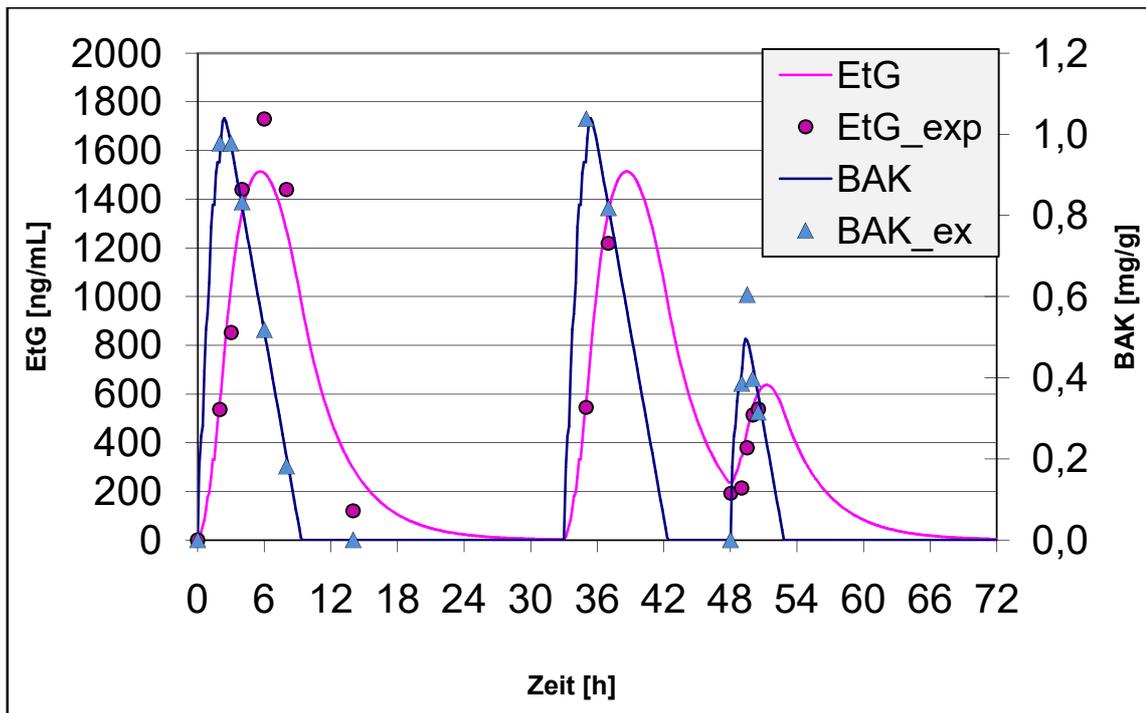


Abbildung 37: BAK- und EtG-Verlauf Proband 20

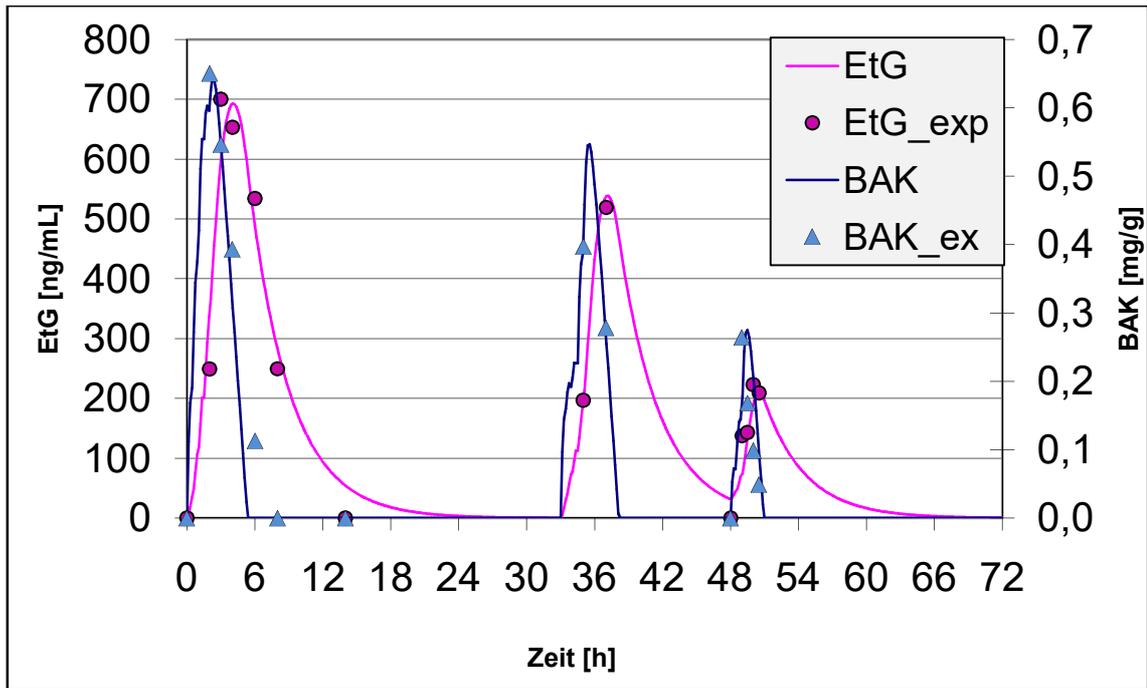


Abbildung 38: BAK- und EtG-Verlauf Proband 21-V2

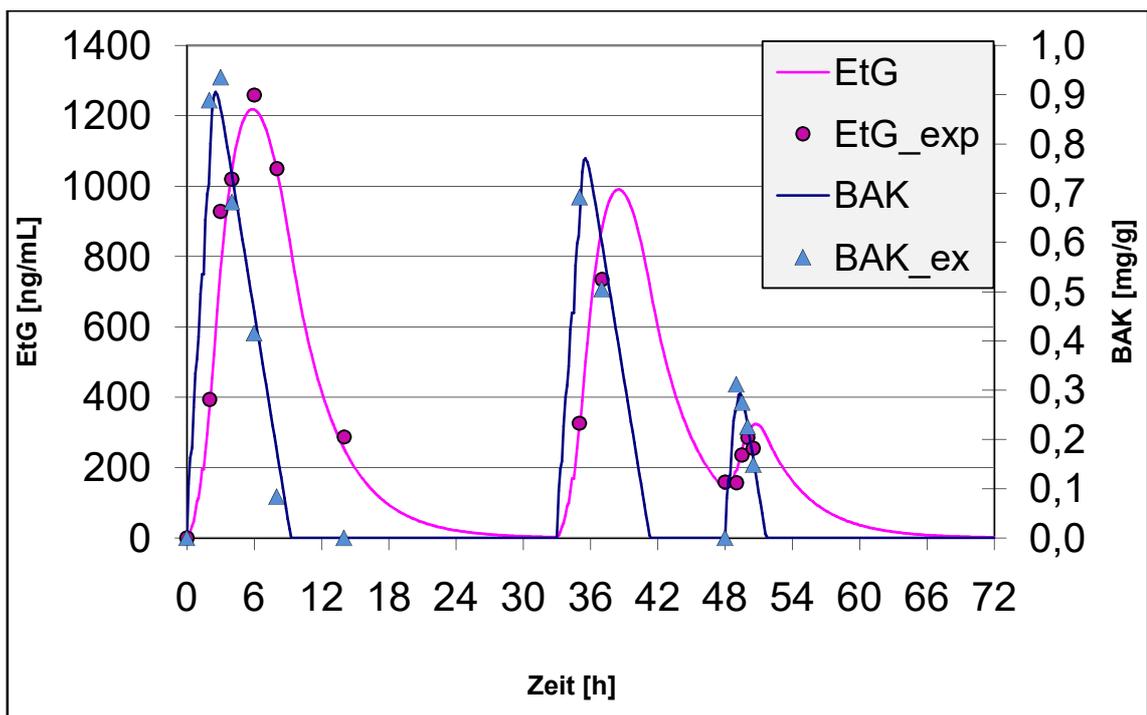


Abbildung 39: BAK- und EtG-Verlauf Proband 22-V2

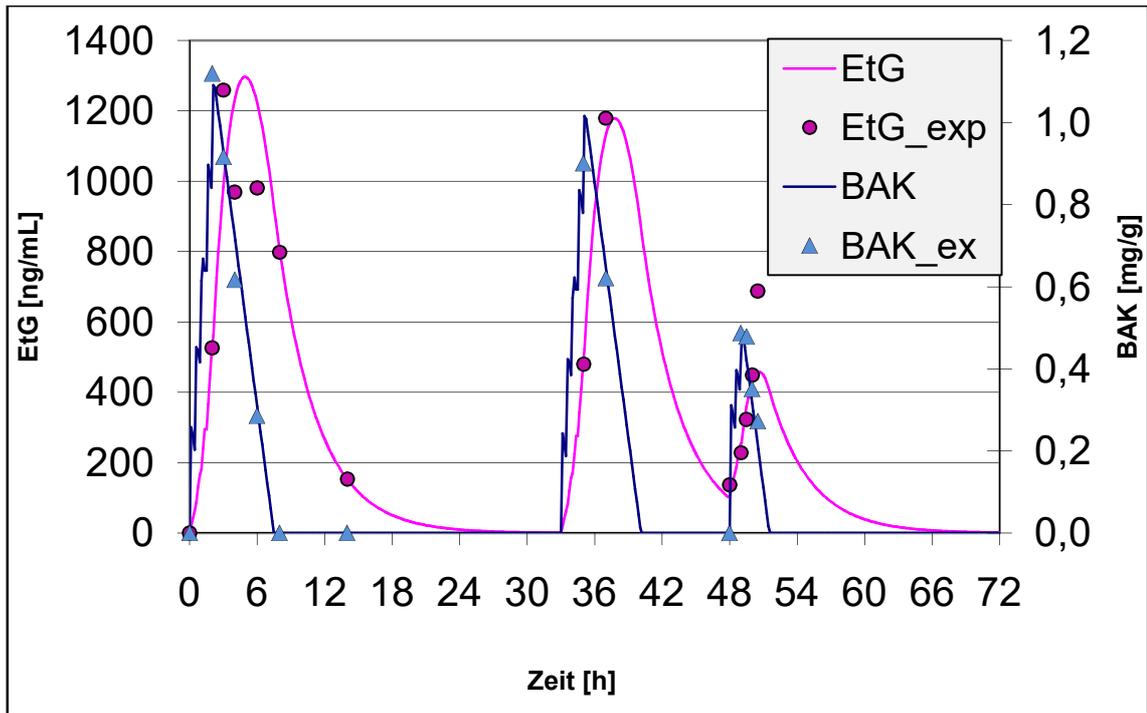


Abbildung 40: BAK- und EtG-Verlauf Proband 23

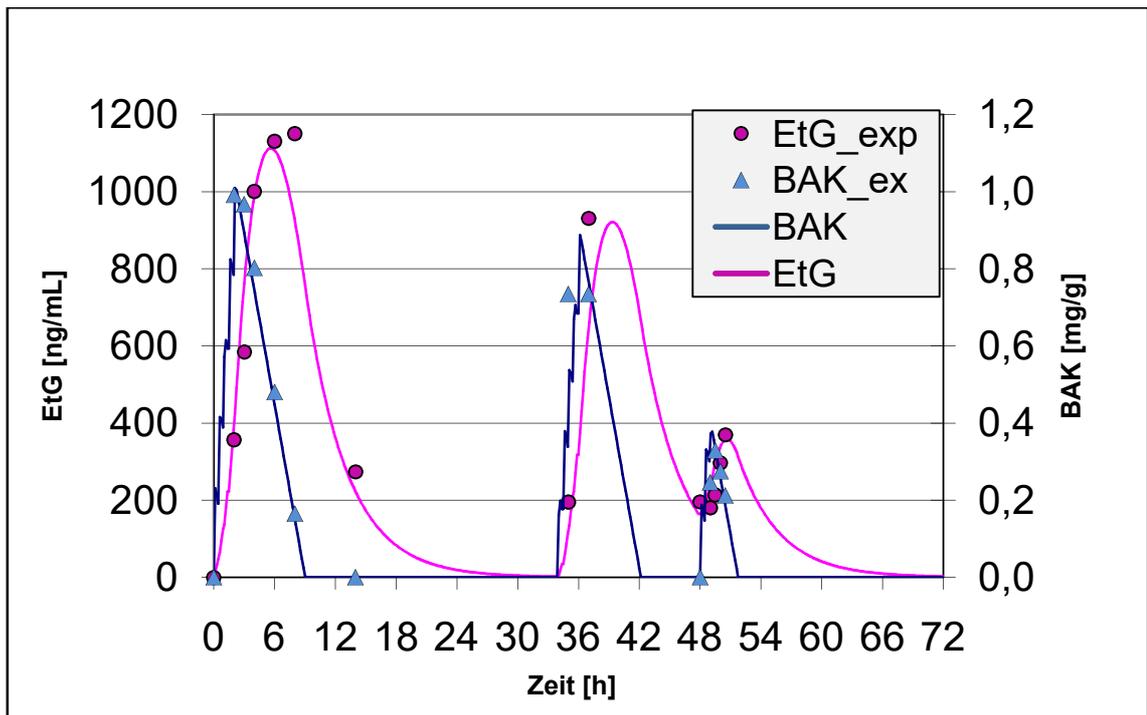


Abbildung 41: BAK- und EtG-Verlauf Proband 24

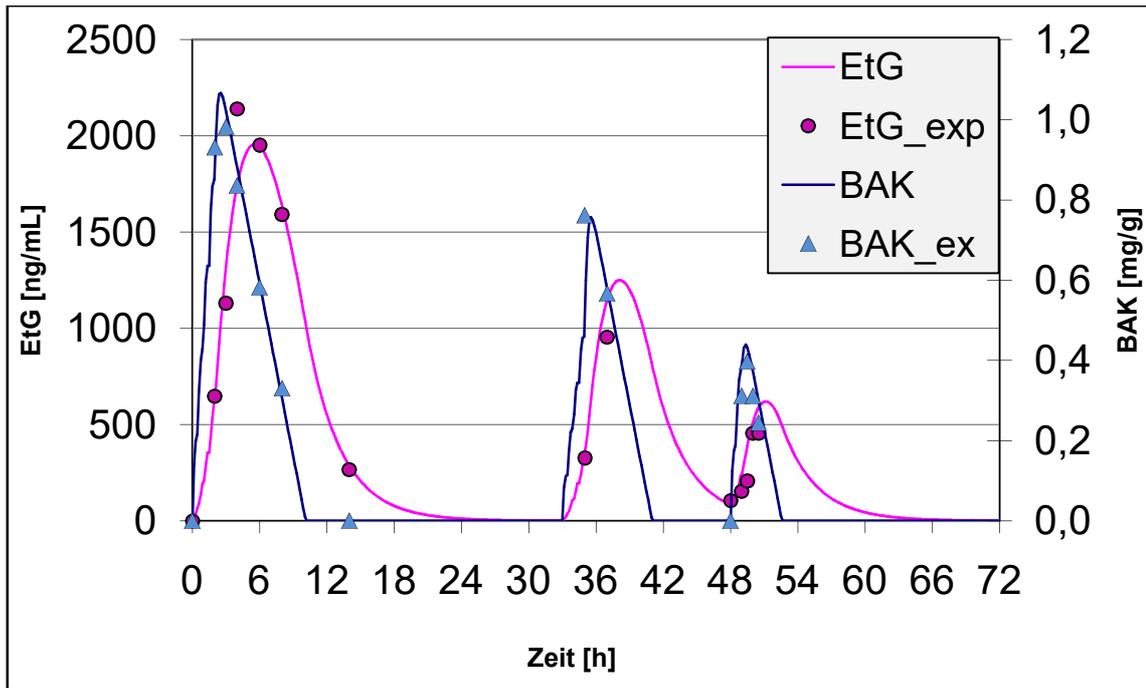


Abbildung 42: BAK- und EtG-Verlauf Proband 25

P4	P12	Blutentnahme
758	2660	Nüchternprobe
693	2050	I
1030	2430	II
846	2360	III
853	2920	IV
514	1680	V
57,7	284	VI

Tabelle 6: EtG-Verlauf, Vergleich zwischen Proband 4 und 12

Das Maximum der BAK-Mittelwerte am ersten Versuchstag betrug für die weiblichen Teilnehmer 0,85 %.

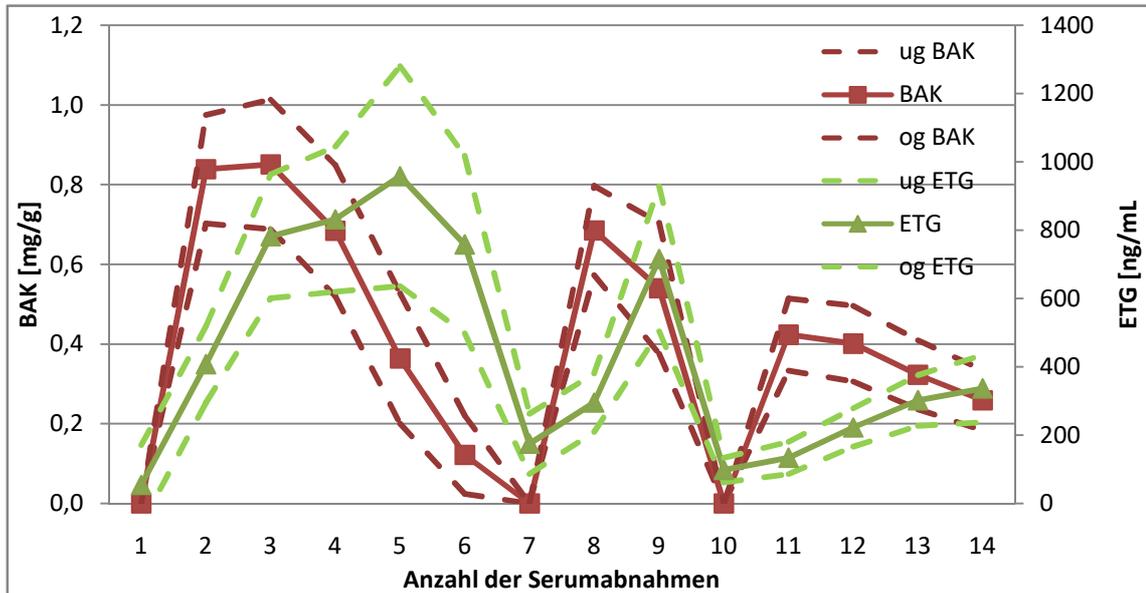


Abbildung 43: Mittelwert BAK und ETG Verlauf bei den weiblichen Probanden

Der Mittelwert der BAK-Werte für die männlichen Probanden betrug 1%.

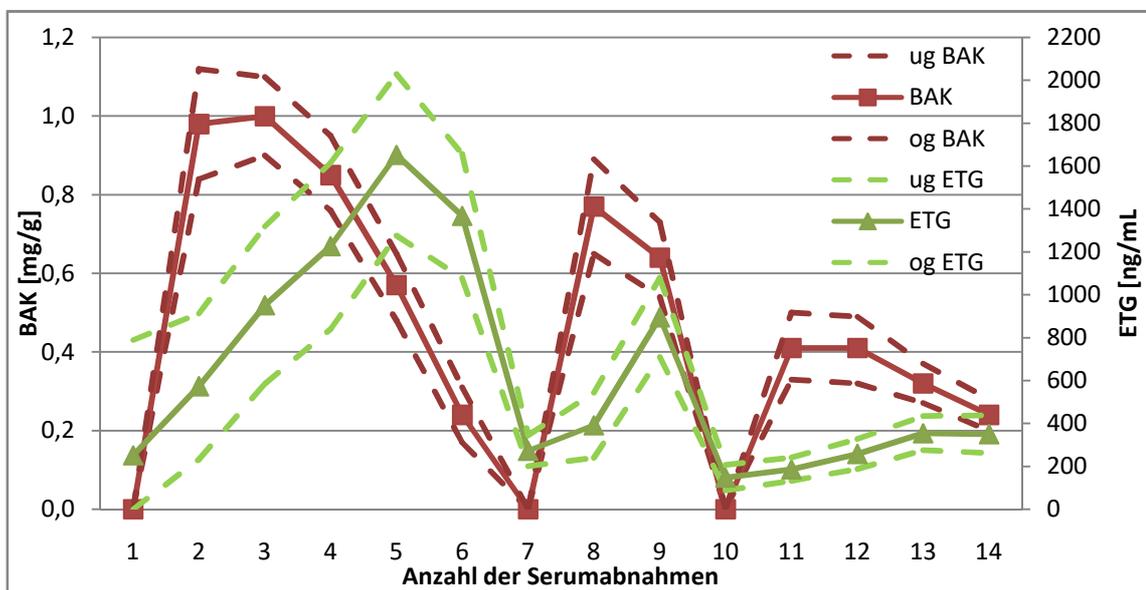


Abbildung 44: Mittelwert BAK und ETG Verlauf bei den männlichen Probanden

Proband 21 (Körpergewicht: 68 kg, Körpergröße:170cm)

Proband 22 (Körpergewicht: 80 kg, Körpergröße:165cm)

Proband	21			22		
Versuch 1	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 1	Tag 2	Tag3
BAK-Werte	0,532 ‰	1,284 ‰	0,23 ‰	1,094 ‰	0,59 ‰	0,527 ‰
Versuch 2	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 1	Tag 2	Tag3
BAK-Werte	0,65 ‰	0,397 ‰	0,264 ‰	0,889 ‰	0,692 ‰	0,312 ‰

Tabelle 7: Vergleich der maximalen BAK-Werte zwischen Proband 21 und 22, Versuch 1 und Versuch 2

Proband 20	1. Tag	2. Tag	3. Tag
	0,978 ‰	1,038 ‰	0,605 ‰
Proband 1	1. Tag	2. Tag	3. Tag
	1,289 ‰	0,693 ‰	0,222 ‰

Tabelle 8: Vergleich der maximalen BAK-Werte zwischen Proband 1 und 20

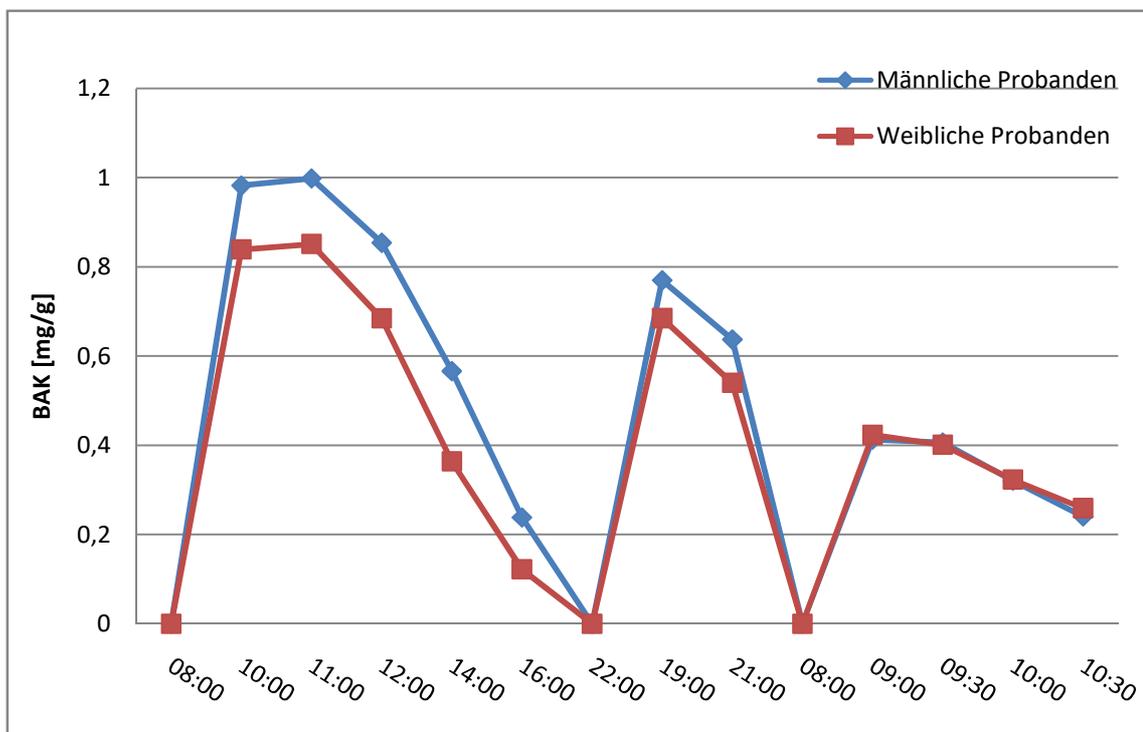


Abbildung 45: Mittelwertvergleich des BAK- Eliminationsverlaufs zwischen männlichen und weiblichen Probanden über die gesamte Versuchsdauer

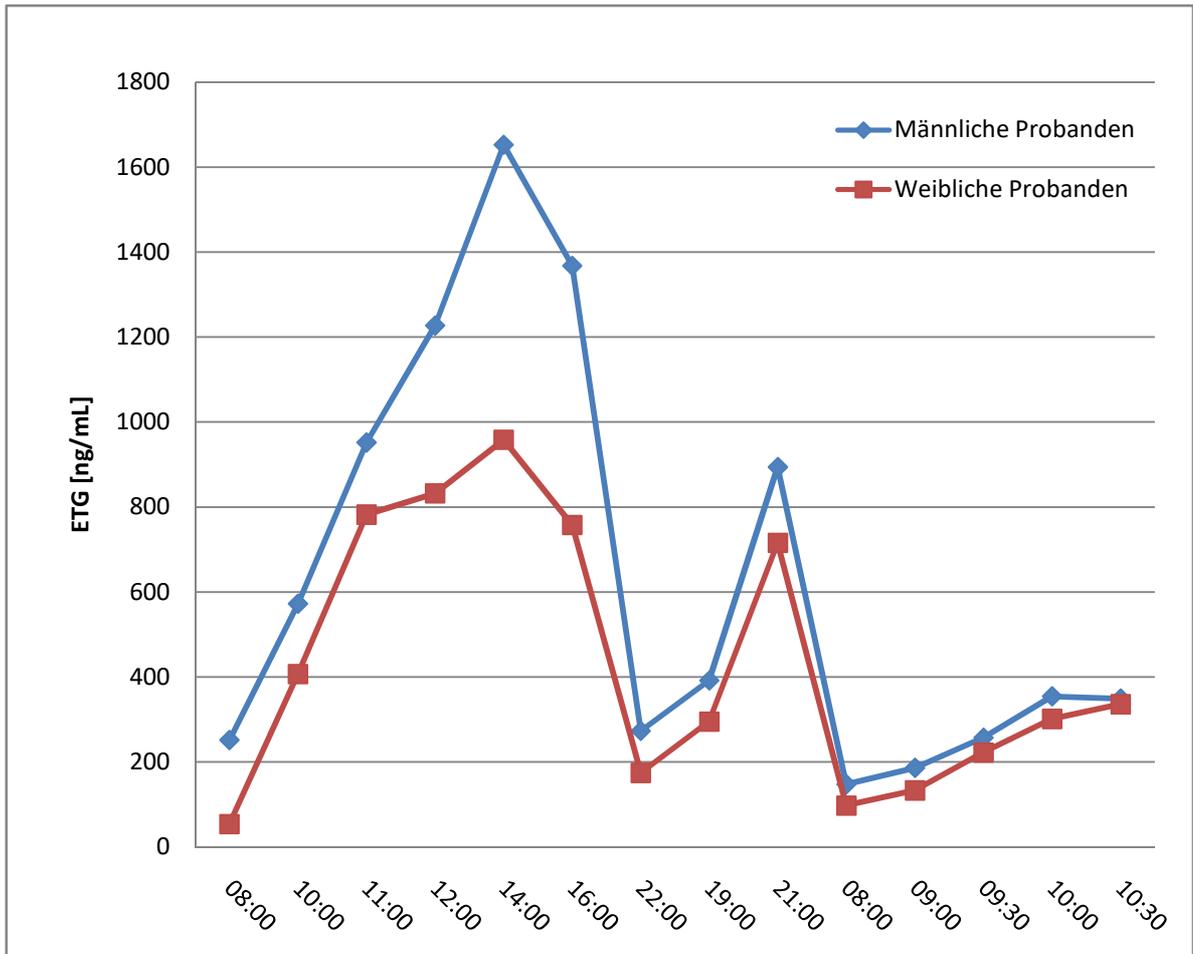


Abbildung 46: Vergleich des ETG-Eliminationsverlaufs zwischen männlichen und weiblichen Probanden

	Invas. EtG [(ng/mL)/(mg/g)*h-1]	Elimin. EtG [h-1]
Mittelwert:	553,84	0,27
Stabw:	173,88	0,09

Tabelle 9: Die interindividuelle Streuung bei der Invasion und Elimination von ETG geschlechtsunabhängig

Pro.	Gesch.	Invas. EtG [(ng/mL)/(mg/g)*h-1]	Elimin. EtG [h-1]
1	W	294	0,27
5	W	395,77	0,19
8	W	515,12	0,25

9	W	615,83	0,23
10	W	455,94	0,2
11	W	418,94	0,32
15	W	802,91	0,41
16	W	277,88	0,14
17	W	472,99	0,14
18	W	472,6	0,18
19	W	449,59	0,48
21	W	635,94	0,27
22	W	628,93	0,25
23	W	674,33	0,28
Mittelwert:		507,91	0,26
Stabw:		148,11	0,10

Tabelle 10: Die Invasion und Elimination von ETG für das weibliche Geschlecht

Pro.	Gesch.	Invas._EtG [(ng/mL)/(mg/g)*h-1]	Elimin._EtG [h-1]
2	M	435,89	0,25
3	M	695,66	0,49
6	M	797,93	0,29
7	M	468,13	0,24
13	M	357,5	0,15
14	M	662,11	0,26
20	M	685,56	0,26
24	M	544,59	0,25
25	M	980,2	0,33
Mittelwert:		625,29	0,28
Stabw:		195,10	0,09

Tabelle 11: die Invasion und Elimination von ETG für das männliche Geschlecht

ETG (K3, K4)	Invas._EtG [(ng/mL)/(mg/g)*h-1]	Elimin._ EtG [h-1]
Grundgesamtheit	553,84±173,88	0,27±0,09
Männliche Probanden	625,29±195,10	0,28±0,09
Weibliche Probanden	507,91±148,11	0,26±0,10

Tabelle 12: Gegenüberstellung der interindividuellen und geschlechterspezifischen Streuung

4 Diskussion

An dieser Studie haben 25 freiwillige, gesunde Erwachsene, die aufklärungs- und zustimmungsfähig waren, teilgenommen. Es haben insgesamt Fünfzehen weibliche und Zehn männliche Probanden teilgenommen.

Das weibliche Probandenkollektiv war durchschnittlich 24 Jahre alt und hatte ein durchschnittliches BMI von 23,6. Das männliche Probandenkollektiv war durchschnittlich 27 Jahre alt und hatte ein durchschnittliches BMI von 24,3.

Eine Voraussetzung zur Teilnahme an den Versuchen war, dass die Probanden gesellschaftlich konform Alkohol konsumieren. Alle Probanden wurden eine Woche vor dem Versuch klinisch und laborchemisch (siehe Anhang 3) untersucht. Laborchemisch wurde besonders auf Hinweise nach Leberschäden, Stoffwechselerkrankungen und Morbus Meulengracht gesucht. Bei weiblichen Probanden wurde eine Schwangerschaft ausgeschlossen (siehe ärztlicher Anamnesebogen im Anhang 2).

Nach der Auswertung der Labore durften zwei Probanden aufgrund von erhöhten Transaminasen nicht an den Versuchen teilnehmen und mussten durch neue ersetzt werden. Die Probanden mussten 24 Stunden vor dem Versuch alkoholabstinent sein. In Bezug auf Nahrungsaufnahme und Nikotinkonsum wurden keine Vorgaben gemacht.

Am ersten Versuchstag erfolgte eine Blutabnahme vor dem Trinkbeginn, d.h. eine Nüchternprobe wurde abgenommen, um festzustellen, ob der Proband tatsächlich alkoholabstinent war. Um Manipulationen und Verrechnungen vorzubeugen und eine kontrollierte Alkoholaufnahme gewährleisten zu können, wurde jedem Probanden nach der Berechnung der Trinkmenge mittels Widmark-Formel (siehe Kapitel 1.1.1) das jeweilige Getränk bereitgestellt. Die Alkoholmenge abhängig vom Körpergewicht lag durchschnittlich bei den weiblichen Probanden bei 69,71g und bei den männlichen Probanden bei 85,72g. Die Getränkewahl war jedem Probanden selbst überlassen. Zudem konnten die Probanden sich aussuchen, ob sie den Alkohol pur trinken oder mit nichtalkoholischen Getränken vermischen. Zur Auswahl gab es Wodka (40%), Bier (5%), Wein (12%), Likör (20%), Rum (31,5%). Als nichtalkoholische Getränke standen Wasser, diverse Fruchtsäfte und Energydrinks (Redbull) zur Verfügung. Die angestrebte Alkoholkonzentration lag bei ca. 0,8- 1‰ (Alkoholbelastung bis ca. 1,4g Ethanol/kg

Körpergewicht). Um einen Diffusionssturz zu verhindern, wurde den Probanden empfohlen die berechnete Trinkmenge gleichmäßig über zwei Stunden zu trinken.

Aus Datenschutzgründen wurde jedem Probanden vor Versuchsbeginn eine Probandennummer zugeteilt, die bei den jeweiligen Versuchen und bei der späteren Auswertung der Analysedaten beibehalten wurde. Zusätzlich wurde für jeden Proband ein Protokoll geführt. Dieses Protokoll beinhaltete folgende Daten: Probandennummer, Körpergewicht, Körpergröße, Alkoholmasse, getrunkenes Volumen in ml und die Art des alkoholischen Getränkes (siehe Tabelle 3). Die Trinkzeiten und die jeweiligen Blutabnahmen wurden fortwährend über dem gesamten Versuch schriftlich festgelegt und eingehalten.

Zu Beginn wurde eine Nüchternprobe entnommen, um später festzustellen, ob alle Probanden tatsächlich auch nüchtern zum Versuch erschienen waren.

Die Probanden 4 und 12 wiesen im Serum am ersten Versuchstag bei der Nüchternprobe bereits einen erhöhten EtG-Wert auf. (siehe Tabelle 6). Daraus geht hervor, dass beide Probanden bereits vor der Untersuchung Alkohol konsumiert hatten. Diese beiden Probanden konnten vor den Untersuchungen nicht herausgefiltert werden, da wir vor dem Versuch keine AAK durchgeführt haben. Die Ergebnisse dieser zwei Probanden sind daher besonders zu betrachten, da sie die Karenzzeit nicht eingehalten haben.

Nach der Nüchternprobenentnahme um 8 Uhr wurde anschließend über zwei Stunden lang getrunken. Nach zweistündiger Trinkzeit wurde die erste Blutprobe entnommen. Die weiteren Blutproben wurden dann 1, 2, 4, 6 und 12 Stunden nach Trinkende entnommen (siehe Tabelle 1). Den meisten Probanden fiel es schwer am frühen Morgen Alkohol zu trinken, dennoch haben es alle ohne wesentliche klinische Symptome gemeistert, ausgenommen Probandin Nr. 1. Dadurch, dass Probandin 1 sehr schnell getrunken hatte, klagte sie anfangs über leichte Übelkeit, die sich schnell durch Wasserzufuhr besserte. Da sie später keine klinischen Symptome mehr aufwies, durfte sie an dem Versuch weiter teilnehmen.

Der zweite Versuchsblock bestand aus zwei Teilen. Am Abend, 17 Uhr, des zweiten Versuchstages wurde wiederum über zwei Stunden lang die bereits am ersten Versuchstag für jeden Probanden berechnete Alkoholmenge konsumiert, die zu einer Zielgröße von 0,8 - 1‰ bei einer Trinkzeit von zwei Stunden führen sollte. Hier wurde keine Nüchternprobe abgenommen. Am Trinkende, um 19 Uhr, sowie zwei Stunden danach, um 21 Uhr, wurde jeweils eine Blutprobe entnommen. Die Probanden wurden dann

zwischen 22 und 23 Uhr, sobald sie subjektiv und objektiv dazu in der Lage waren, entlassen.

Der zweite Teil dieses Versuchsblocks wurde am nächsten Morgen (3. Versuchstag) um 8:00 Uhr mit einer Nüchternproben-Entnahme fortgesetzt. Die Zeitdauer der Alkoholkontrollen war jedoch kurzer. Es wurde über eine Stunde Alkohol bis zu einer Zielgröße von 0,5-0,6‰ konsumiert („Nachtrunk“). Nach Trinkende sowie 0,5, 1 und 1,5 Stunden danach wurden weitere Blutproben entnommen.

In diesem Versuch wurden die BAK- und EtG- Werte in Serum quantifiziert. Insgesamt wurden 350 Proben von 25 Probanden ausgewertet. Bei 3 Probanden (Proband 4, 12 und 13) war in den Nüchternproben am ersten Versuchstag, obwohl sie 24 Stunden Alkoholabstinent sein sollten bereits ein EtG-Wert festzustellen. Bei Proband 4 war es 758 ng/ml, bei Proband 12: 2660 ng/ml und bei Proband 13: 105 ng/ml. Bei Proband 13 konnte der EtG-Wert, da er sehr niedrig war, vernachlässigt werden. Hier sieht man, dass die EtG-Werte der Probanden 4 und 12 nach Trinkende zuerst abfallen, danach steigen die EtG-Werte wieder an. Das zeigt, dass die Eliminationskinetik die Invasionskinetik übersteigt. In der Anfangsphase wird Alkohol schneller eliminiert als aufgebaut. In der Tabelle 6 sind die Werte der beiden Probanden gegenübergestellt.

8 von 25 Probanden hatten am ersten Versuchstag eine BAK von über 1‰. Bei weiteren 11 von 25 Probanden waren die BAK-Werte zwischen 0,8-1‰ (Zielwert). 6 von 25 Probanden hatten BAK-Werte unter 0,8‰.

In der Abbildung 43 und 44 wurde zwischen männlichen und weiblichen Teilnehmern unterschieden, da der Verteilungsfaktor (r) im Körper sich bei beiden unterscheidet. Bei Männern beträgt der Verteilungsfaktor 0,7 und bei Frauen 0,6. Siehe Widmarkformel. Es ist aufgefallen, dass im Regelfall der Spitzenwert am zweiten Versuchstag deutlich unter dem Maximum der Kurve am ersten Versuchstag lag. 9 von 25 Probanden haben an den ersten beiden Tagen bei gleicher Trinkmenge gleiche BAK-Werte. Bei 11 von 25 Probanden sieht man einen geringen Unterschied bis maximal 0,3‰ zwischen den ersten beiden Versuchstagen. Bei 3 von 25 Probanden war der Unterschied bis maximal 0,5‰.

Proband 1 mit einem BMI von 20,3 (0,6‰) und Proband 11 mit einem BMI von 34,7(0,7‰) weisen den größten BAK-Wert-Unterschied zwischen den ersten beiden Tagen auf. Da Proband 21 und 22 Extremverläufe im ersten Versuchsgang aufwiesen, d.h. die BAK-Wert-Unterschiede zwischen den ersten beiden Versuchstagen sehr groß

waren – BAK-Wert des zweiten Versuchstages deutlich unter dem Maximum des ersten Versuchstages – wurde ein zweiter Versuchsgang angesetzt. Siehe Tabelle 7.

Die Probanden erklärten sich bereit und willigten mündlich ein, sodass zum Ausschluss einer eventuellen Probandenverwechslung im Labor anonym eine Identifikationskontrolle (DNA-Analyse) vorgenommen wurde.

Beim Wiederholungsversuch kann eine geringere Abweichung zwischen den ersten beiden Versuchstagen festgestellt werden. Am 2. Versuchstag weisen die BAK-Werte beider Probanden im Gegensatz zum ersten Versuchstag immer noch eine Abweichung auf. Es wurden alle Maßnahmen ergriffen um aufzudecken, warum die Ergebnisse dieser beiden Probanden zwischen den beiden Versuchstagen erheblich voneinander differieren.

Ähnlich wie bei den 18 anderen Probanden sind die BAK-Werte am 2. Versuchstag hier auch niedriger als am ersten Versuchstag. Es gibt keine fassbare Erklärung hierfür, aber es muss einen systematischen Grund geben, weil wir wiederholt beobachtet haben – auch die Mittelwerte weisen dies nach, dass innerhalb der zweiten Alkoholisierung, die kurz nach der ersten erfolgt, möglicherweise intraindividuelle Besonderheiten vorlagen.

Diese sind gegenwärtig nicht zu klären. Der Versuchsablauf wurde kritisch hinterfragt, zudem gibt es aus allen Dokumentationen keinen Anhalt für eine Fehldosierung des Alkohols.

Innerhalb der Probandengruppe gab es eine große Bandbreite an intraindividuellen Besonderheiten zwischen den einzelnen Personen. Natürlich gab es gewisse Unterschiede hinsichtlich zeitlicher Natur oder der Getränkeauswahl, diese sind jedoch nach bisherigen Trinkversuchserfahrungen nicht plausibel.

Die intraindividuellen Besonderheiten können sich bei ein und dergleichen Person innerhalb von zwei Tagen nicht dahingehend drastisch verändern, dass doppelt so niedrige bzw. doppelt so hohe Blutalkoholkonzentrationen vorliegen. Diese große Diskrepanz kann über eine physiologische Komponente nicht befriedigend erklärt werden.

Zum einen wurde nachgeforscht, ob Fehler hinsichtlich des Versuchsprotokolls unterlaufen sind und zum anderen wurde die Compliance der Probanden in Frage gestellt. Nach allen Aufzeichnungen gibt es jedoch keine Anhaltspunkte dafür, sodass diese Fragen nicht abschließend geklärt werden können. Eine Probandenverwechslung ist aufgrund der Nachuntersuchungen auszuschließen.

In den Versuchen fällt auf, dass die Probanden, die zwischen den alkoholischen Getränken nicht variiert haben, d.h. immer bei einer Sorte Alkohol geblieben sind, ihre Werte weniger Schwankungen aufweisen als die, die mehrere Alkoholsorten zu sich genommen haben. Zum Vergleich hat Proband 20 (Körpergewicht: 72 kg, Körpergröße: 169cm) an allen drei Tagen nur eine Alkoholsorte konsumiert. Er hat an allen 3 Tagen nur Bier getrunken. Im Gegensatz zu Proband 20 hat z.B. Proband 1 (Körpergewicht: 52 kg, Körpergröße: 160cm) an den ersten beiden Versuchstagen Bier und Wodka zu sich genommen. Das sagt aus, dass die Art des Getränkes bei der Auswertung ebenfalls eine Rolle spielen könnte. In der Tabelle 8 ist der Vergleich zwischen den beiden Probanden dargestellt.

Das Körpergewicht ist in der Widmarkformel einer der Faktoren, es wird jedoch zwischen Fett- und Muskelmasse nicht unterschieden. Beim Proband 11 fällt ein Körpergewicht von 90 kg bei 161cm auf. Dies entspricht einem BMI-Wert von 34,7. Der hohe BAK-Wert am ersten Versuchstag erklärt sich nicht durch den hohen Fettanteil am Körpergewicht der Probandin oder der opulenten Mahlzeit, die am zweiten Versuchstag vor Versuchsbeginn aufgenommen wurde. Eine Erhöhung des Alkoholdefizits ist theoretisch durch eine fettreiche Mahlzeit möglich, aber ein dermaßen großer Sprung im Resorptionsdefizit kann nicht dadurch begründet werden. Das Körpergewicht ist eine Konstante, die sich innerhalb von zwei Tagen nicht enorm verändert.

Die maximalen BAK-Werte wurden 2-3 Stunden nach Trinkbeginn erreicht (durchschnittlich 2,5 Stunden). Die BAK-Eliminationsverläufe sind der Abbildung 45 zu entnehmen.

Jeder Proband, der Alkohol aufgenommen hatte, wies EtG im Blut auf. Wenn man die EtG-Werte im Blut betrachtet, wird es deutlich, dass, sobald Alkohol im Blut ist, der EtG-Wert exponentiell ansteigt. Bei allen Probanden konnte ein EtG-Wert bereits zwei Stunden nach Trinkbeginn gemessen werden. Ausgenommen Proband 4 und 12, die mit einem bereits erhöhten EtG-Wert zum 1. Versuchstag erschienen sind, welches auf eine Incompliance der Probanden hinweist.

Bei 13 von 25 Probanden erreichten die EtG-Werte ihre Maxima erst nach der vierten Blutentnahme, d.h. 4 Stunden nach Trinkende, wo die BAK-Werte bereits Werte unter 0,2‰ aufwiesen. Bei 4 von 25 Probanden erreichten die EtG-Werte ihre Maxima erst nach der 5. Blutentnahme, d.h. 6 Stunden nach Trinkende. Hier werden die intra-

individuellen Schwankungen hinsichtlich der EtG-Bildung und -Elimination verdeutlicht. Siehe Abbildung 46.

Beim Nachtrunk am dritten Tag wird die Hypothese nochmals bestätigt, dass das EtG deutlich länger im Blut nachweisbar ist als die BAK. 75% der Probanden hatten bei der Nüchtern-Probe am dritten Versuchstag immer noch einen Rest-EtG, welches die Eliminationskinetik des EtGs verdeutlicht. Siehe Abbildung 46.

Für die Berechnung der Alkoholmenge während des Versuches wurden durch die unterschiedlichen Reduktionskonstanten zwischen weiblichen und männlichen Probanden unterschieden. Nun stellt sich die Frage ob bei der Invasion und Elimination von EtG ebenfalls auf das Geschlecht zurückgeführt werden kann. Die interindividuelle Streuung des gesamten Versuches ist in der Tabelle 9 geschlechtsunabhängig dargestellt.

Beim Vergleich des Mittelwertes und der Standardabweichung von Invasion und Elimination des EtGs zwischen geschlechterspezifischen Probanden und Grundgesamtheit stellt sich heraus, dass die Invasion des EtGs bei den weiblichen Probanden im Mittel um 8% bzw. die Standardabweichung um 14% unterhalb der Grundgesamtheit liegt. Die Invasion und Elimination von EtG für das weibliche Geschlecht ist in der Tabelle 10 und für das männliche Geschlecht in der Tabelle 11 dargestellt.

Im Vergleich zu den weiblichen Probanden steigt bei den männlichen Probanden die Invasion des EtGs im Mittel bzw. Standardabweichung um 13% zur Grundgesamtheit. Analog zur Invasion liegt für die Elimination bei den weiblichen Probanden der Mittelwert bei 4% bzw. die Standardabweichung bei 11% vor. Bei den männlichen Probanden weicht der Mittelwert um 4% bzw. die Standardabweichung ist mit der Grundgesamtheit identisch. Siehe Tabelle 12.

Nach abschließender Bewertung der EtG Auswertung wird ersichtlich, dass die Eliminationskonstante (K_4) für Modellierungen geeignet ist, zumal die Standardabweichung um den Mittelwert um eine 10er Potenz niedriger ist. Bei der Invasionskonstante (K_3) beträgt die Standardabweichung um den Mittelwert über 30% des Mittelwertes, daher untauglich für eine Modellierung.

Des Weiteren wurde festgestellt, dass für die Invasion (K_3) ein signifikantes Delta von 118 zwischen den männlichen und weiblichen Probanden gegeben ist. Bei der Eliminationskonstante (K_4) ist die Differenz nicht signifikant. Folglich kann dennoch eine

Rückrechnung wegen der Abweichung bei der Invasion geschlechtsunabhängig nicht erfolgen. Nun stellt sich die Frage ob dieses Erkenntnis auf das weibliche Geschlecht bzw. die Physiologie zurückzuführen ist oder das Ergebnis zufällig zum Vorschein kommt.

In der Statistik ist der Hypothesentest die t- Verteilung. Sie kann verwendet werden, um zu bestimmen, ob zwei Stichproben sich statistisch signifikant voneinander unterscheiden. Grundsätzlich wird zunächst die 0- Hypothese gestellt. Anhand der t- Test- Untersuchung kann schließlich statistische Signifikanz einer Auswertung untersucht werden, in wie weit der errechnete Mittelwert die Grundgesamtheit repräsentiert. Grundannahme ist die Varianzgleichheit zwischen den Stichproben (0-Hypothese nach Levene-Test).

Abhängig von der Fragestellung können folgende drei Formen des t-Tests in Betracht gezogen werden:

- 1-Stichproben t-Test
- 2- Stichproben t-Test
- Paardifferenz t-Test

In unserem Fall ist der 2-Stichproben t-Test das geeignete Verfahren um die Signifikanz der beiden Mittelwerte, nämlich den weiblichen und männlichen EtG-Aufbaugeschwindigkeit zu ermitteln. Ausgehend von der 0-Hypothese müsste zwischen den Geschlechtern keinen Unterschied im Aufbaugeschwindigkeit bestehen. Die Beibehaltung der 0-Hypothese ist im Tool SPSS ermittelt worden. (Siehe Anhang 5).

- Signifikanzwert nach Levene = 0,367
- T-Wert= 1,639
- Signifikanzniveau: $\alpha = 0,05$
- Wahrscheinlichkeit $p = 0,116$

$\alpha < p \rightarrow$ Statistische Signifikanz nicht bestätigt

$\alpha > p \rightarrow$ Statistische Signifikanz bestätigt

Levene-Test der Varianzgleichheit: Signifikanzwert = 0,367 > 0.05, daraus folgt: 0-Hypothese nach Levene bestätigt.

2-Seitiges Signifikanz = 0.116 > 0,05, daraus folgt: kein statistisch signifikanter Effekt zwischen den Geschlechtern hinsichtlich EtG-Aufbaugeschwindigkeit.

5 Zusammenfassung

Ethylglucuronid (EtG) ist ein wasserlösliches, nicht flüchtiges, direktes Stoffwechselprodukt, ein sogenannter Phase-II-Metabolit des Trinkalkohols, ist daher sehr spezifisch und hat eine hohe Sensitivität für den Nachweis konsumierten Alkohols. Die Routine-Analytik zum Nachweis von EtG geht aus Serum, Urin oder Haaren aus.

In dieser Arbeit geht es um die kinetischen Betrachtungen –Invasionskinetik und die Eliminationskinetik– die dazu dienen, Trinkeinlassungen zu beurteilen. Außerdem soll ermittelt werden, ob eine Behauptung zu einer konkreten Alkoholaufnahme mittels EtG-Wert verifiziert oder falsifiziert werden kann.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zum ersten Mal eine konkometierende Bestimmung von BAK und EtG im Blutserum von 25 Probanden (insgesamt 350 Proben) in einem dreitägigen Versuch bestimmt.

Die Versuche unterlagen hinsichtlich der vorangegangenen Nahrungsaufnahme und der Getränkewahl keinerlei Einschränkungen. Die Probanden sollten jedoch vor den Versuchen 24 Stunden alkoholabstinent sein.

Die berechnete Alkoholmenge in (g) abhängig vom Körpergewicht lag durchschnittlich bei den männlichen Probanden höher als bei den weiblichen Probanden.

Die Art des Getränkes war jedem Probanden selbst überlassen. Es durfte entweder pur getrunken werden oder die alkoholischen Getränke durften auch mit nicht-alkoholischen Getränken gemischt werden. Die angestrebte Alkoholkonzentration lag bei ca. 0,8- 1‰ (Alkoholbelastung bis ca. 1,4g Ethanol/kg Körpergewicht).

Der Mittelwert der erreichten BAK-Werte im Maximum am ersten Versuchstag betrug für die weiblichen Teilnehmer 0,85 ‰ und für die männlichen Probanden 1‰.

Es ist aufgefallen, dass im Regelfall der Spitzenwert am zweiten Versuchstag deutlich unter dem Maximum der Kurve am ersten Versuchstag lag. Diese Diskrepanz war bei zwei Probanden sogar so groß, dass die Versuche wiederholt und DNA-Analysen durchgeführt werden mussten, um eventuelle Probenverwechslungen auszuschließen. Auch beim Wiederholungsversuch hatten die BAK-Werte der beiden Probanden am zweiten Versuchstag bei gleicher Trinkmenge Abweichung vom ersten Tag. Hierfür gibt es bisher keine vernünftige Erklärung, es könnte eine systematische Ursache geben.

Wir haben wiederholt beobachtet (auch die Mittelwerte weisen dies nach), dass innerhalb der zweiten Alkoholisierung, die kurz nach der ersten erfolgt, offensichtlich andere physiologische Verhältnisse vorliegen könnten. Diesbezüglich sind weitere Untersuchungen notwendig.

In den Versuchen ist aufgefallen, dass die Probanden, die zwischen den alkoholischen Getränken nicht gemischt haben, d.h. immer bei einer Sorte Alkohol geblieben sind, ihre Werte weniger Schwankungen zwischen dem ersten und zweiten Versuchstag aufwiesen als die, die mehrere Alkoholsorten gemischt getrunken haben. Das sagt aus, dass die Art des Alkohols bei der Auswertung ebenfalls eine Rolle spielt. Für zukünftige Kinetikstudien sollte daher eine Standardisierung der Trinkeinheiten eingeführt werden, damit belastbare Ausgangsdaten zur Verfügung stehen.

Betrachtet man die EtG-Werte im Blut, wird deutlich, dass sobald Alkohol im Blut ist, der EtG-Wert exponentiell ansteigt. Bei allen Probanden konnte ein relevanter EtG-Wert bereits 2 Stunden nach Trinkbeginn, d.h. bei der ersten Blutabnahme gemessen werden. Die EtG-Maxima wiesen bei allen Probanden Unterschiede auf. Hier werden die intraindividuellen Schwankungen hinsichtlich der EtG-Bildung und -Elimination verdeutlicht.

Bei allen Probanden im Trinkversuch konnte bestätigt werden, dass der Abbau von Ethylglucuronid im Serum nach einer Kinetik 1. Ordnung verläuft. Das ist ein typisch exponentieller Abfall der Konzentration mit der Zeit.

Beim Nachtrunk am dritten Tag wird die Hypothese nochmals bestätigt, dass das EtG deutlich länger im Blut nachweisbar ist als der BAK. 75 % der Probanden hatten bei der Nüchternprobe am dritten Versuchstag immer noch einen Rest-EtG (bei einem BAK-Wert von Null), welches die Eliminationskinetik des EtGs verdeutlicht.

Für künftige Versuche sollte initial eine Atemalkoholanalyse ermittelt werden. Dadurch können nicht eingehaltener Alkoholkarenz sofort ermittelt und die Probanden vor dem Versuch ausgeschlossen werden.

Aus Erfahrungen aus dieser Studie sollten an jedem Versuchstag Nüchternproben entnommen werden. Die Blutentnahmen sollten an jedem Versuchstag zu gleicher Zeit erfolgen. Die Anzahl der Blutabnahmen sollte an allen Versuchstagen gleich sein.

Um eine fehlende Compliance der Probanden zu reduzieren, sollten streng kontrollierte Alkoholausgaben eingeführt werden.

In künftige Studien sollten die Probanden in zwei Gruppen unterteilt werden. Eine Gruppe, die nur eine Alkoholsorte konsumiert und die zweite Gruppe, die mehrere Alkoholsorten mischt, um festzustellen ob das „Durcheinandertrinken“ eine Auswirkung auf den Versuch hat.

Diese Studie war eine Pilotstudie, um künftige Studien besser planen zu können.

6 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Matthias Graw danke ich herzlichst für die Zurverfügungstellung eines hochinteressanten Dissertationsthemas sowie für die geduldige Unterstützung bei der Ausarbeitung dieser Arbeit und die kollegiale und freundliche Arbeitsatmosphäre.

Herrn Dr. Detlef Thieme möchte ich für die Zweitbetreuung und für die fortwährende Unterstützung bei der Datenanalyse und Auswertung sowie für den stets hilfsbereiten Beistand herzlich danken.

Mein Dank gilt allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des toxikologischen Labors und des forensisch toxikologischen Zentrums des Instituts für Rechtsmedizin. Einen besonderen Dank an Frau Tanja Zipfel für die stete Hilfsbereitschaft sowie die freundliche Arbeitsatmosphäre im Labor und Frau Sabrina Riedel für die freundliche Unterstützung und für die unendlich vielen Datenanalysen.

Besonders möchte ich meinem Mann danken, der immer für mich da war, mich allzeitig unterstützt und ermutigt hat sowie für die Aufbringung von unendlicher Geduld. Ohne seine Hilfe hätte ich es nicht soweit gebracht.

Darüber hinaus gilt mein besonderer Dank meiner älteren Schwester und meinem Vorbild Dr. Robia Ayni-Sadat, meinen weiteren Geschwistern und meinen Eltern, die mich in jeder Lebenslage unterstützen und motivieren. Meinen Schwiegereltern, allen Verwandten, Freunden und Kollegen, die während dieser Zeit für mich da waren, danke ich ebenfalls von Herzen.

Mein tiefer Dank möchte ich meiner Schwägerin Hadia und meiner Freundin Mehtap aussprechen, die mich nicht nur seelisch, sondern auch bei den Laborarbeiten unterstützt haben.

Last but not least, möchte ich dem lieben Gott danken, dass er mir so viel Kraft gegeben hat, trotz Familie und Arbeit, meine Dissertation abzuschließen.

Literaturverzeichnis

1. Alkohol: <https://www.wissen.de/wortherkunft/alkohol> . Aufgerufen am [12.06.2016](#)
2. RÖMPP Chemie-Enzyklopädie Online (Version 3.19), Eintrag zu Ethanol“ 2011: www.roempp.com/prod/. Aufgerufen am 10.10.2014
3. Lieber CS, DeCarli LM, Feinmann L, Hasumura Y, Korsten M, Matsuzaki S, Teschke R, (1975) Effects of chronic alcohol consumption on ethanol and acetaldehyde metabolism. In: Gross MM, (ed): Alcohol Intoxication and Withdrawal. Vol II, 185 Plenum Press, New York
4. Mallach HJ, (1986) Konzentrationsverlauf im Blut: Pharmakokinetik. In Alkoholwirkung beim Menschen; Mallach HJ, Hartmann H, Schmidt V, V. Hrsg.: Thieme Verlag, Stuttgart- New- York, S. 13 – 34
5. Thomas, Lothar, (2005) Labor und Diagnose, TH-Books, Frankfurt am Main 2005, ISBN 3-980-52155.
6. Soyka M, (1995) Die Alkoholkrankheit – Diagnose und Therapie, Chapman und Hall, 69469 Weinheim, S.79- 82
7. Herold G, Innere Medizin (1999) Herausgeber: Dr.med. Gerd Herold, August-Haas-Str. 43, 50737 Köln, S.412
8. Neumeister, Besenthal, Liebrich, (2003) Klinikleitfaden Labordiagnostik, Urban&Fischer, München/Jena 2003, ISBN 3-437-22231-7
9. De Leon J, (2003) Glucuronidation enzymes, genes and psychiatry. Int J Neuropsychopharmacol.; 6(1) : 57- 72.
10. Wurst FM, Kempster C, Seidl S, Alt A, (1999) Ethylglucuronide- a marker of alcohol consumption and a relapse marker with clinical and forensic implications; Alcohol Alcohol, 34(1): 71 – 77
11. Baranowski S, Serr A, Weinmann W, Grosse Perdekamp M, Wurst FM, Halter C, (2008) In vitro study of bacterial degradation of ethylglucuronide and ethylsulfate and conclusions for forensic interpretation of post-mortem concentrations. Int J Legal Med, 2008; 122: 389-393
12. Brinkmann B, Naeve W, Eichen R, Rehner M, (1970) Beziehung zwischen Pylorustonotus und Resorptionsgeschwindigkeit von getrunkenem Äthylalkohol. Blutalkohol 7, 358

13. Widmark EMP, (1932); Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich- medizinischen Alkoholbestimmung. Urban & Schwarzenberg; Berlin und Wien, S. 91 – 106
14. Skopp G (2004) Preanalytic aspects in postmortem toxicology. *Forensic Sci Int* 142: 75-100
15. Nishikawa M, Tsuchihashi H, Miki A, Katagi M, Schmitt G, Zimmer H, Keller T, Aderjan R (1999) Determination of ethyl glucuronide, minor metabolite of ethanol, in human serum by liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *J Chromatography B* 726: 105-110
16. Dahl H, Stephanson N, Beck O, Helander A (2002) Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol and ethyl glucuronide. *J Anal Toxicol* 26: 201-204
17. Brinkmann B, Madea B (2004) *Handbuch gerichtliche Medizin*. Springer, Berlin Heidelberg a) Bd. 2, S. 403-415, b) Bd. 2, S. 494-500
18. Forth W, Henschler D, Rummel W (2001) *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 8. Auflage Urban & Fischer, München Jena, S. 1077-1084
19. Drummer OH (2001) *The forensic pharmacology of drugs of abuse*. Arnold Publishers, London, S. 278-285
20. Conigrave KM, Degenhardt LJ, Whitfield B, Saunders B, Helander A, Tabakoff B. On behalf of the WHO/ISBRA study on biological state and trait markers of alcohol use and dependence investigators. CDT, GGT, and AST as markers of alcohol use: The WHO/ISBRA collaborative project. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 332–9.
21. Madea B (2003). *Praxis Rechtsmedizin*. 1. Auflage. Springer-Verlag. S. 409-434
22. ROINE, R. P. ; GENTRY, R. T. ; LIM, R. T. Jr ; HELKKONEN, E. ; SALASPURO, M. ; LIEBER, C. S.: Comparison of blood alcohol concentrations after beer and whiskey. In: *Alcohol Clin Exp Res* 17 (1993), Jun, Nr. 3, S. 709–11
23. PENNING, R. : *Alkohol, Drogen und Verkehrssicherheit*. UNI-MED Verlag, 4. Auflage
24. Kamil IA, Smith NJ, Williams RT. A new aspect of ethanol metabolism: isolation of ethyl glucuronide. *Biochem J*. 51 (1952) 64-70
25. Schmitt G, Aderjan R, Keller T, Wu M. Ethyl glucuronide: an unusual metabolite in humans. Synthesis, analytical data and determination in serum and urine. *J Anal Toxicol*. 19 (1995) 91-94.
26. Jaakonmaki PI, Knox KL, Horning EC, Horning MG (1967). "The Characterization by Gas-liquid Chromatography of Ethyl Beta-D-glucosiduronic Acid as a Metabolite of Ethanol in Rat and Man." *Eur J Pharmacol* 1(1): 63-70.

27. Thierauf A, Perdekamp MG, Weinmann W, Auwärter V. Alkoholkonsummarker. Rechtsmedizin 2011;21:69–79.
28. Wurst FM, Skipper GE, Weinmann W. Ethyl glucuronide – the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. Addiction 2003;98 Suppl 2:51–61.
29. Agarwal, D.P.; Agarwal-Kozlowski, K. (1999): Genetische Aspekte von Alkoholismus und alkoholassozierten Organschäden. in: Singer, M.V.; Teyssen, S. (Hrsg.): Alkohol und Alkoholfolgekrankheiten. Springer, Berlin
30. Mallach, H.J. (1987): Konzentrationsverlauf im Blut: Pharmakokinetik. in: Mallach, H.J.; Hartmann, H.; Schmidt, V.: Alkoholwirkung beim Menschen: Pathophysiologie, Nachweis, Intoxikation, Wechselwirkungen. Thieme, Stuttgart
31. Grüner, O. (1995): Forensische Aspekte des Alkohols. In: Seitz, H.K., Lieber, C.S., Simanowski, U.A. (Hrsg.): Handbuch Alkohol, Alkoholismus, alkoholbedingte Organschäden. Barth, Leipzig
32. Lebensmittelchemisches Institut des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e.V. (BDSI); Institutsleiter: Prof. Dr. Reinhard Matissek; <http://www.lci-koeln.de/deutsch/veroeffentlichungen/lci-focus/lc-ms-ms-was-ist-das-eigentlich>
33. WHO: Global Status Report on Alcohol and Health 2011
http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/.
Aufgerufen am 10.03.2016
34. Schmidt L, (1993) Alkoholkrankheit und Alkoholmissbrauch, 3 Auflage; Stuttgart: Kohlhammer, Kapitel 4.1.2: S. 110
35. Brinkmann B, Naeve W, Eichen R, Rehner M, (1970) Beziehung zwischen Pylorustonius und Resorptionsgeschwindigkeit von getrunkenem Äthylalkohol. Blutalkohol 7, 358
36. Alkoholkonsum:
https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GesundAZ/Content/A/Alkoholkonsum/Inhalt/alkoholkonsum_inhalt.html
Aufgerufen am 12.09.16
37. Alkoholelimination: <http://www.spiegel.de/gesundheit/diagnose/who-bericht-alkohol-konsum-fordert-3-3-millionen-todesopfer-pro-jahr-a-968872.html> Schmitt G, Aderjan R, Keller T, Wu M. Ethylglucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data and determination in serum and urine; J Anal Toxicol. 1995.
38. G. Eisenbrand und M. Metzler, "Toxikologie für Chemiker - Stoffe, Mechanismen,

- Prüfverfahren." Georg Thieme Verlag (Stuttgart, Deutschland), 1994. ISBN: 3-13-127001-2.
39. www.lci-koeln.de/lci-focus-heft9.2002; Aufgerufen am 15.08.2017
40. <http://www.bads.de/Alkohol/alkoholstoffwechsel.htm>; Aufgerufen am 10.09.2017
41. <https://www.kup.at/kup/pdf/8250.pdf> ; Aufgerufen am 10.09.2017
42. Agarwal, D. P., Goedde, H. W., eds. Alcohol Metabolism, Alcohol Intolerance and Alcoholism. 1990, Springer Verlag: Heidelberg, S. 12.
43. Bühringer, G., et al., eds. Alkoholkonsum und alkoholbezogene Störungen in Deutschland. Schriftenreihe des Bundesministeriums für Gesundheit, ed. B.f. Gesundheit. Vol. 128. 2000, Nomos-Verlagsgesellschaft: Baden-Baden, S. 67 ff.
44. Weinmann, W., et al., Confirmatory analysis of ethylglucuronide in urine by liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry according to forensic guidelines. J Am Soc Mass Spectrom, 2004. 15(2): 188-193.
45. Thieme, D.; Sachs, H.: Graw, M.: Forensischer Nutzen der Ethylglykoronidbestimmung in Blut, Urin und Haaren. Z. f. Verkehrssicherheit 62, (2016)
46. <http://www.oc.uni-koeln.de/ms-oc/esi.htm>
47. Sander et al., 2006
48. Brismar und ergmann, 1998; D'Onofrio et al., 1998; Gentilello, 1999; Spies und Tønnesen, 2001; Sander et al., 2006
49. Tønnesen et al., 1992; Spies et al., 1996; Breuer et al., 2003
50. Bühringer G, Augustin R, Bergmann E, Bloomfield K, Funk W, Junge B, Kraus L, Mersfert-Diete C, Rumpf HJ, Simon R, Töppich J (2002). Alcohol consumption and alcoholrelated problems in Germany. 1.Aufl., Hogrefe, Göttingen)
51. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e.V. <http://www.dhs.de/web/>
52. <https://www.bussgeld-info.de/abstinenznachweis/>
53. <https://www.tuev-nord.de/de/privatkunden/verkehr/psychologie-medizin-mpu/mpu/abstinenznachweis/>
54. <https://www.verkehrsanwaelte.de/verkehrsrecht/mpu/>
55. M. Böttcher, O. Beck, A. Helander (2008) Alcohol and Alcoholism, 43(1): 46-48
56. C.C. Halter et al. (2008) Int J Legal Med 122:123-128
57. Bundesärztekammer: Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16
58. Stauer K, Andresen H, Vettorazzi E, Tobias N, Nashan B, Sterneck M: Urinary ethyl glucuronide as a novel screening tool in patients preand post-liver transplantation improves detection of alcohol consumption. Hepatology 2011; 54: 1640–9
59. Jatlow P, Agro A, Wu R, et al.: Ethyl glucuronide and ethyl sulfate assays in clinical

- trials, interpretation, and limitations: results of a doseranging alcohol challenge study and 2 clinical trials. *Alcohol Clin Exp Res* 2014; 38: 2056–65
60. Andresen-Streichert H, Beres Y, Weinmann W, et al.: Improved detection of alcohol consumption using the novel marker phosphatidylethanol in the transplant setting: results of a prospective study. *Transplant* 2017; 30: 611–20
61. <https://www.arbeitssicherheit.de/schriften.html>

Anhang

Anhang 1

Probandeninformation und Einwilligungserklärung

Nachweis von Ethylglucuronid- ein Phase-II-Metabolit von Ethanol- in menschlichem Blut

Sie haben sich freundlicherweise bereit erklärt, als Proband an einer wissenschaftlichen Untersuchung teilzunehmen. Die Untersuchung befasst sich mit der Problematik der Blutalkoholkonzentration. Alkoholismus stellt eine der verbreitetsten Suchtkrankheiten in unserer Gesellschaft dar. Seit langem wird nach einem sensitiven und zugleich spezifischen Marker gesucht, der auch mäßigen Alkoholkonsum verlässlich anzeigt. Die Bestimmung des Ethanolgehaltes im Blut reflektiert nur einen sehr kurzen Zeitraum des Alkoholkonsums.

Ethylglucuronid (ETG) stellt einen neuen spezifischen Marker dar. ETG entsteht im menschlichen Körper aus einem kleinen Teil des aufgenommenen Alkohols. Es wird deutlich langsamer ausgeschieden als Alkohol selbst, d.h. man kann den Alkoholkonsum auch dann noch nachweisen, wenn der Alkohol selbst nicht mehr im Körper auffindbar ist.

Die Zielsetzung der Studie ist unabhängig von der Blutalkoholkonzentration mit dem EtG einen weiteren Parameter zur Abschätzung des Alkoholkonsums zu etablieren.

Versuchsablauf:

Sie werden einige Tage vor Versuchsbeginn eingehend medizinisch untersucht werden. Im Rahmen dieser Untersuchung werden wir Ihnen auch eine Blutprobe u.a. zur Bestimmung der Leberenzyme entnehmen. An den Versuchen können Sie selbstverständlich nur dann teilnehmen, wenn Sie vollständig gesund sind. Auch eine Schwangerschaft stellt einen Ausschlussgrund dar.

Es ist beabsichtigt, jeden Probanden zwei Versuchen zu unterziehen. Die Versuche werden an zwei Tagen vorgenommen. Eine Vorbereitung Ihrerseits ist nicht nötig.

Am Versuchstag werden Sie gebeten, zum vereinbarten Termin in das Versuchslabor zu kommen. Die Blutprobenentnahmen erfolgen je nach Wunsch des Probanden durch jeweiligen Nadeleinstich in die Armvenen oder durch eine zu Versuchsbeginn gelegte Venenverweilkanüle. Das Legen der Verweilkanüle erspart Ihnen ein wiederholtes Einstechen bei den Blutentnahmen.

Zunächst wird Ihnen eine Blutprobe entnommen (Nullwert). Dann erhalten Sie alkoholische Getränke nach Wahl (Bier, Wein, Schnaps); die Menge richtet sich nach Ihrem Körpergewicht, vorgesehen sind bis zu 1,4g Ethanol/kg Körpergewicht. Bei einem 75 kg schweren Mann entspricht dies ca.5 Halben Bier. Die Trinkzeit beträgt maximal zwei Stunden. Nach Abschluss der Trinkzeit von 2 Stunden wird eine Blutprobe entnommen, weiterhin werden 1, 2, 4 und 6 Stunden sowie 12 Stunden nach Trinkende weitere Blutproben entnommen (insgesamt am 1. Versuchstag 7 Proben).

Der zweite Versuchsblock besteht aus zwei Teilen. Am Abend (ca. 18:00 Uhr) des 1. Tags wird über 2 Stunden wiederum eine Alkoholmenge konsumiert, die zu einer Zielgröße von 0,8 bis 1 Promille bei einer Trinkzeit von 2 Stunden führt. Am Trinkende sowie eine Stunde danach werden jeweils Blutproben entnommen. Sie werden dann, sobald sie subjektiv und objektiv dazu in der Lage sind, nach Hause entlassen. Der zweite Teil dieses Versuches wird am nächsten Morgen (z.B. gegen 08:00 Uhr) mit einer weiteren Blutentnahme fortgesetzt. Anschließend wird über eine Stunde Alkohol bis zu einer Zielgröße von 0,5 bis 0,6 Promille konsumiert ("Nachtrunk"). Bei Trinkende sowie 0,5, 1, 1,5 Stunden nach Trinkende werden weitere Blutproben entnommen. Mit der initialen Blutprobe werden im zweiten Versuchsblock somit insgesamt 8 Blutproben entnommen.

Die Blutproben umfassen jeweils ca. 3 ml Blut, sodass insgesamt bei 15 Blutproben eine Blutmenge von weniger als 50 ml entnommen wird.

Die Wirkung des Ethanol, des Trinkalkohols, ist Ihnen aus dem alltäglichen Leben bekannt. Sie können an den Versuchen nur dann teilnehmen, wenn Sie nicht alkoholungewohnt sind, d.h. zumindest gelegentlich Alkohol konsumieren. Die angestrebte Alkoholkonzentration (ca. 0,8-1Promille) wird bei Ihnen zu einem gering- bis mittelgradigen Rausch führen. Unter Umständen können auch vegetative Symptome wie Übelkeit und Erbrechen auftreten. Das Auftreten und die Intensität solcher Rauschwirkungen sind davon abhängig, wie alkoholgewöhnt Sie sind.

Sie werden während des Versuchs unter ärztlicher Kontrolle sein; sollten bedeutsame Nebenwirkungen auftreten, wird der Versuch abgebrochen werden. Sie nehmen an den Versuchen freiwillig teil. Auch Sie selbst können jederzeit von sich aus, ohne Nennung von Gründen und ohne Nachteile befürchten zu müssen, den Versuch abbrechen.

Eine Heimfahrt mit dem eigenen Auto nach den Versuchen können wir Ihnen nicht gestatten.

Datenschutz

Alle Informationen und Angaben werden streng vertraulich behandelt. Die Daten werden zahlencodiert gespeichert, so dass auch die Prüfer die Ergebnisse einzelnen Personen nicht zuordnen können. Ein Rückschluss auf ihre Person von Seiten Dritter ist nicht möglich. Nur die Leiter der Studie haben im Rahmen der entsprechenden gesetzlichen Vorschriften Zugang zu den vertraulichen Daten, in denen Sie namentlich genannt werden. Diese Personen unterliegen der Schweigepflicht und sind zur Beachtung des Datenschutzes verpflichtet. Die Weitergabe der anonymisierten Daten im In- und Ausland erfolgt ausschließlich zu statistischen und wissenschaftlichen Zwecken. Sie werden darin namentlich nicht genannt. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Ereignisse dieser Studie werden Sie namentlich nicht genannt.

Sollten Sie von dem Versuch vor Abschluss zurücktreten, werden die bis dahin gewonnene Untersuchungsmaterialien und Daten vernichtet werden, es sei denn, Sie stimmen einer Untersuchung und Verwertung ausdrücklich zu.

Aufwandschädigung

Die Teilnahme an den Versuchen bringt für Sie eine nicht unerhebliche Zeitbelastung mit sich und erfordert ein hohes Maß an Disziplin. Als Anerkennung für Ihre Mitarbeit können wir Ihnen einen finanziellen Ausgleich in Höhe von 150,- Euro gewähren. Dieser finanzielle Ausgleich kann jedoch nur an Probanden ausgezahlt werden, die den Versuch komplett absolvieren.

Abschließende Bemerkungen

Falls Sie noch Fragen haben, werden wir Ihnen diese gerne beantworten. Wir möchten Sie noch ausdrücklich darauf hinweisen, dass Sie eine einmal gegebene Bereitschaftserklärung zur Teilnahme an den geplanten Versuchen jederzeit zurückziehen können, ohne dass hierdurch Nachteile für Sie entstehen werden.

Ich erkläre mich einverstanden, als Proband m o.g. Versuch teilzunehmen.

Ort, Datum

Name

Unterschrift

Aufklärende/r Ärztin/Arzt

Unterschrift

Mir wurde die Aufwandschädigung in Höhe von 150,- Euro ausgehändigt.

Ort, Datum

Name

Unterschrift

Anhang 2

Ärztliche Anamnese

Name:

Vorname:

Geburtsdatum:

Datum der Untersuchung:

Medikamente:

Diagnosen:

Allgemeinbefund:

Größe:

Gewicht:

Alter:

AZ:

EZ:

Thorax: un – symmetrisch, Seitengleich beatmet

Pulmo: sehr – gute – mäßige – keine Atemverschieblichkeit

Sonorer Klopfeschall: ja / nein

Vesikuläres Atemgeräusch: ja / nein

Cor: rhythmisch / arrhythmisch / Extratöne

Abdomen: weich – gut eindrückbar – gespannt

Resistenzen:

Abwehrspannung:

Darmgeräusche:

Leber nicht/

Querfinger unterhalb des Rippenbogens tastbar

Risikoanamnese:

- Arterielle Hypertonie
- Diab. Mellitus: Typ 1
- Hypercholesterinämie
- Nikotin
- Alkohol

Typ 2

Eigenanamnese:

Allergie:

HerzKreislauf:

Blutgerinnung:

Infektionen: Hep. A / B / C, HIV andere:

Gravidität:

- ja
- nein

Morbus (Gilbert-)Meulengracht:

- ja
- nein

Laborwerte

Barcode: 04 2595 0027		EM-ID:	Auftr.-Nr.: DG 3075 3086		Seite: 1 / 1
Patient:	[REDACTED]				
Gebt.:	[REDACTED]				
Gesch:	M	Entnahme:	15.02.2013 17:08	Kasse:	Arztliche
Klassische Angaben:		Eingang:	15.02.2013 17:08	Abrechnung:	Labogemeinschaft GBR
Material: EDTA-Blut, Serum		Ausgang:	15.02.2013 19:28	Kennz.:	Hochstr. 27 46221 Doehau
Untersuchung:	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich	Endbefund	
kleines Blutbild					
Blutbild					
Leukozyten	4.7	$\times 10^9/\mu\text{l}$	4.0 - 9.4		
Erythrozyten	5.09	$\times 10^{12}/\mu\text{l}$	4.6 - 6.2		
Hämoglobin	15.0	g/dl	14.0 - 18.0		
Hämatokrit	44.0	%	40 - 54		
MCV	86.0	fL	83 - 95		
MCH	29.5	pg	27.0 - 32.0		
MCHC	34.1	g/dl	30 - 38		
Thrombozyten	174	$\times 10^9/\mu\text{l}$	150 - 440		
Alk. Phosphatase	86	U/l	40 - 130		
GOT (=AST)	34.0	U/l	< 60		
GPT (=ALT)	21	U/l	< 50		
γ -GT	22.0	U/l	< 60		
Bilirubin gesamt	0.38	mg/dl	0.1 - 1.2		
Kreatinin	0.84	mg/dl	0.70 - 1.20		
Glomer. Filtr. Rate (MDRD)	120	$\text{ml}/\text{min}/1.7\text{m}^2$	> 60		
Erreoder: Frau Barbara Ayril-Jaadi 41543 München					

Röhrchen- nummer	Probanden- nummer	Alter	Körper- gewicht [Kg]	gesamte Alk- Menge/Tag [g]	Datum	Blutprobe	Zeit	Alk 1	Alk 2	ETG Wert- in ng/mL
1	13	24	87	93	23.02.2013	0	08:00	0	0	105
2	14	26	98	102	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
3	15	22	66	69	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
4	16	23	68	70	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
5	17	25	77	76	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
6	18	21	58	63	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
7	19	23	48	56	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
8	20	32	72	81	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
9	21	21	68	70	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
10	22	36	80	78	23.02.2013	0	08:00	0	0	0
11	13	24	87	93	23.02.2013	I	10:00	1,024	1,034	285
12	14	26	98	102	23.02.2013	I	10:00	0,809	0,834	414
13	15	22	66	69	23.02.2013	I	10:00	0,571	0,565	425
14	16	23	68	70	23.02.2013	I	10:00	0,774	0,776	123
15	17	25	77	76	23.02.2013	I	10:00	0,791	0,79	300
16	18	21	58	63	23.02.2013	I	10:00	0,821	0,826	342
17	19	23	48	56	23.02.2013	I	10:00	0,918	0,927	277
18	20	32	72	81	23.02.2013	I	10:00	0,978	0,982	536
19	21	21	68	70	23.02.2013	I	10:00	0,505	0,504	365
20	22	36	80	78	23.02.2013	I	10:00	1,084	1,092	893
21	13	24	87	93	23.02.2013	II	11:00	0,899	0,911	531
22	14	26	98	102	23.02.2013	II	11:00	0,902	0,911	833
23	15	22	66	69	23.02.2013	II	11:00	0,556	0,565	644
24	16	23	68	70	23.02.2013	II	11:00	1,187	1,195	269
25	17	25	77	76	23.02.2013	II	11:00	1,043	1,046	611
26	18	21	58	63	23.02.2013	II	11:00	0,87	0,868	834
27	19	23	48	56	23.02.2013	II	11:00	1,105	1,109	697
28	20	32	72	81	23.02.2013	II	11:00	0,978	0,981	852
29	21	21	68	70	23.02.2013	II	11:00	0,532	0,536	607
30	22	36	80	78	23.02.2013	II	11:00	1,094	1,086	1470
31	13	24	87	93	23.02.2013	III	12:00	0,779	0,775	649

329	25	33	90	95	09.03.2013	VI	22:00	0	0	267
330	23	23	76	75	10.03.2013	I	19:00	0,901	0,934	480
331	24	24	75	83	10.03.2013	I	19:00	0,734	0,742	195
332	25	33	90	95	10.03.2013	I	19:00	0,762	0,773	326
333	23	23	76	75	10.03.2013	II	21:00	0,621	0,637	1180
334	24	24	75	83	10.03.2013	II	21:00	0,734	0,737	931
335	25	33	90	95	10.03.2013	II	21:00	0,567	0,588	955
336	23	23	76	37	11.03.2013	0	08:00	0	0	137
337	24	24	75	41	11.03.2013	0	08:00	0	0	196
338	25	33	90	47	11.03.2013	0	08:00	0	0	106
339	23	23	76	37	11.03.2013	I	09:00	0,487	0,505	229
340	24	24	75	41	11.03.2013	I	09:00	0,246	0,247	180
341	25	33	90	47	11.03.2013	I	09:00	0,311	0,314	154
342	23	23	76	37	11.03.2013	II	09:30	0,479	0,474	323
343	24	24	75	41	11.03.2013	II	09:30	0,329	0,349	213
344	25	33	90	47	11.03.2013	II	09:30	0,397	0,394	206
345	23	23	76	37	11.03.2013	III	10:00	0,351	0,36	449
346	24	24	75	41	11.03.2013	III	10:00	0,275	0,275	297
347	25	33	90	47	11.03.2013	III	10:00	0,311	0,309	456
348	23	23	76	37	11.03.2013	IV	10:30	0,273	0,253	688
349	24	24	75	41	11.03.2013	IV	10:30	0,212	0,218	370
350	25	33	90	47	11.03.2013	IV	10:30	0,244	0,252	456

296	12	22	74	41	18.02.2013	III	10:00	0,336	0,336	300
297	1	22	52	30	18.02.2013	IV	10:30	0,144	0,144	101
298	2	32	79	43	18.02.2013	IV	10:30	0,206	0,205	206
299	3	30	72	40	18.02.2013	IV	10:30	0,155	0,154	217
300	4	21	75	37	18.02.2013	IV	10:30	0,204	0,208	266
301	5	27	62	33	18.02.2013	IV	10:30	0,319	0,318	362
302	6	24	78	43	18.02.2013	IV	10:30	0,211	0,231	364
303	7	28	65	38	18.02.2013	IV	10:30	0,203	0,2	141
304	8	21	56	31	18.02.2013	IV	10:30	0,06	0,6	165
305	9	26	71	36	18.02.2013	IV	10:30	0,313	0,317	383
306	10	25	75	37	18.02.2013	IV	10:30	0,158	0,158	260
307	11	30	90	43	18.02.2013	IV	10:30	0,115	0,115	117
308	12	22	74	41	18.02.2013	IV	10:30	0,241	0,239	235
309	23	23	76	75	09.03.2013	0	08:00	0	0	0
310	24	24	75	83	09.03.2013	0	08:00	0	0	0
311	25	33	90	95	09.03.2013	0	08:00	0	0	0
312	23	23	76	75	09.03.2013	I	10:00	1,12	1,1	526
313	24	24	75	83	09.03.2013	I	10:00	0,992	1,009	356
314	25	33	90	95	09.03.2013	I	10:00	0,931	0,986	648
315	23	23	76	75	09.03.2013	II	11:00	0,917	0,925	1260
316	24	24	75	83	09.03.2013	II	11:00	0,967	0,966	584
317	25	33	90	95	09.03.2013	II	11:00	0,982	0,966	1130
318	23	23	76	75	09.03.2013	III	12:00	0,617	0,675	969
319	24	24	75	83	09.03.2013	III	12:00	0,802	0,811	1000
320	25	33	90	95	09.03.2013	III	12:00	0,836	0,836	2140
321	23	23	76	75	09.03.2013	IV	14:00	0,286	0,298	981
322	24	24	75	83	09.03.2013	IV	14:00	0,48	0,491	1130
323	25	33	90	95	09.03.2013	IV	14:00	0,582	0,587	1950
324	23	23	76	75	09.03.2013	V	16:00	0	0	799
325	24	24	75	83	09.03.2013	V	16:00	0,165	0,171	1150
326	25	33	90	95	09.03.2013	V	16:00	0,33	0,327	1590
327	23	23	76	75	09.03.2013	VI	22:00	0	0	153
328	24	24	75	83	09.03.2013	VI	22:00	0	0	274

263	3	30	72	40	18.02.2013	I	09:00	0,293	0,293	183
264	4	21	75	37	18.02.2013	I	09:00	0,567	0,572	180
265	5	27	62	33	18.02.2013	I	09:00	0,504	0,501	154
266	6	24	78	43	18.02.2013	I	09:00	0,496	0,49	235
267	7	28	65	38	18.02.2013	I	09:00	0,255	0,257	81,5
268	8	21	56	31	18.02.2013	I	09:00	0,284	0,295	0
269	9	26	71	36	18.02.2013	I	09:00	0,221	0,222	110
270	10	25	75	37	18.02.2013	I	09:00	0,305	0,297	134
271	11	30	90	43	18.02.2013	I	09:00	0,391	0,391	0
272	12	22	74	41	18.02.2013	I	09:00	0,551	0,555	90,6
273	1	22	52	30	18.02.2013	II	09:30	0,222	0,224	80,3
274	2	32	79	43	18.02.2013	II	09:30	0,348	0,341	206
275	3	30	72	40	18.02.2013	II	09:30	0,226	0,23	230
276	4	21	75	37	18.02.2013	II	09:30	0,392	0,389	135
277	5	27	62	33	18.02.2013	II	09:30	0,419	0,42	264
278	6	24	78	43	18.02.2013	II	09:30	0,364	0,63	390
279	7	28	65	38	18.02.2013	II	09:30	0,215	0,216	86,8
280	8	21	56	31	18.02.2013	II	09:30	0,206	0,209	118
281	9	26	71	36	18.02.2013	II	09:30	0,376	0,384	171
282	10	25	75	37	18.02.2013	II	09:30	0,245	0,245	208
283	11	30	90	43	18.02.2013	II	09:30	0,304	0,31	114
284	12	22	74	41	18.02.2013	II	09:30	0,387	0,388	124
285	1	22	52	30	18.02.2013	III	10:00	0,207	0,21	105
286	2	32	79	43	18.02.2013	III	10:00	0,278	0,273	202
287	3	30	72	40	18.02.2013	III	10:00	0,226	0,23	326
288	4	21	75	37	18.02.2013	III	10:00	0,333	0,338	219
289	5	27	62	33	18.02.2013	III	10:00	0,419	0,423	297
290	6	24	78	43	18.02.2013	III	10:00	0,317	0,317	385
291	7	28	65	38	18.02.2013	III	10:00	0,225	0,23	133
292	8	21	56	31	18.02.2013	III	10:00	0,12	0,123	167
293	9	26	71	36	18.02.2013	III	10:00	0,408	0,406	327
294	10	25	75	37	18.02.2013	III	10:00	0,207	0,208	188
295	11	30	90	43	18.02.2013	III	10:00	0,233	0,233	214

230	6	24	78	86	17.02.2013	I	19:00	0,753	0,761	940
231	7	28	65	76	17.02.2013	I	19:00	0,572	0,584	235
232	8	21	56	62	17.02.2013	I	19:00	0,572	0,582	283
233	9	26	71	72	17.02.2013	I	19:00	0,949	0,958	505
234	10	25	75	75	17.02.2013	I	19:00	0,731	0,739	170
235	11	30	90	86	17.02.2013	I	19:00	0,329	0,328	108
236	12	22	74	83	17.02.2013	I	19:00	0,843	0,857	343
237	1	22	52	59	17.02.2013	II	21:00	0,515	0,516	317
238	2	32	79	87	17.02.2013	II	21:00	0,381	0,384	529
239	3	30	72	81	17.02.2013	II	21:00	0,816	0,821	1110
240	4	21	75	75	17.02.2013	II	21:00	0,678	0,678	930
241	5	27	62	66	17.02.2013	II	21:00	0,523	0,527	610
242	6	24	78	86	17.02.2013	II	21:00	0,723	0,719	1050
243	7	28	65	76	17.02.2013	II	21:00	0,508	0,51	557
244	8	21	56	62	17.02.2013	II	21:00	0,185	0,184	377
245	9	26	71	72	17.02.2013	II	21:00	0,739	0,743	1080
246	10	25	75	75	17.02.2013	II	21:00	0,372	0,391	529
247	11	30	90	86	17.02.2013	II	21:00	0,051	0,051	219
248	12	22	74	83	17.02.2013	II	21:00	0,564	0,562	753
249	1	22	52	30	18.02.2013	0	08:00	0	0	67,4
250	2	32	79	43	18.02.2013	0	08:00	0	0	0
251	3	30	72	40	18.02.2013	0	08:00	0	0	268
252	4	21	75	37	18.02.2013	0	08:00	0	0	106
253	5	27	62	33	18.02.2013	0	08:00	0	0	79,2
254	6	24	78	43	18.02.2013	0	08:00	0	0	94
255	7	28	65	38	18.02.2013	0	08:00	0	0	53,5
256	8	21	56	31	18.02.2013	0	08:00	0	0	0
257	9	26	71	36	18.02.2013	0	08:00	0	0	165
258	10	25	75	37	18.02.2013	0	08:00	0	0	82,4
259	11	30	90	43	18.02.2013	0	08:00	0	0	0
260	12	22	74	41	18.02.2013	0	08:00	0	0	82,4
261	1	22	52	30	18.02.2013	I	09:00	0,218	0,215	0
262	2	32	79	43	18.02.2013	I	09:00	0,457	0,459	102

197	9	26	71	72	16.02.2013	IV	14:00	0,777	0,813	1980
198	10	25	75	75	16.02.2013	IV	14:00	0,106	0,106	628
199	11	30	90	86	16.02.2013	IV	14:00	0,537	0,536	646
200	12	22	74	83	16.02.2013	IV	14:00	0,72	0,73	2920
201	1	22	52	59	16.02.2013	V	16:00	0,498	0,516	862
202	2	32	79	87	16.02.2013	V	16:00	0,366	0,36	990
203	3	30	72	81	16.02.2013	V	16:00	0,263	0,264	2290
204	4	21	75	75	16.02.2013	V	16:00	0	0	514
205	5	27	62	66	16.02.2013	V	16:00	0	0	667
206	6	24	78	86	16.02.2013	V	16:00	0,063	0,064	1180
207	7	28	65	76	16.02.2013	V	16:00	0,147	0,152	902
208	8	21	56	62	16.02.2013	V	16:00	0	0	173
209	9	26	71	72	16.02.2013	V	16:00	0,375	0,38	1700
210	10	25	75	75	16.02.2013	V	16:00	0	0	549
211	11	30	90	86	16.02.2013	V	16:00	0,079	0,079	598
212	12	22	74	83	16.02.2013	V	16:00	0,239	0,242	1680
213	1	22	52	59	16.02.2013	VI	22:00	0	0	198
214	2	32	79	87	16.02.2013	VI	22:00	0	0	341
215	3	30	72	81	16.02.2013	VI	22:00	0	0	344
216	4	21	75	75	16.02.2013	VI	22:00	0	0	57,7
217	5	27	62	66	16.02.2013	VI	22:00	0	0	89,7
218	6	24	78	86	16.02.2013	VI	22:00	0	0	126
219	7	28	65	76	16.02.2013	VI	22:00	0	0	134
220	8	21	56	62	16.02.2013	VI	22:00	0	0	51,7
221	9	26	71	72	16.02.2013	VI	22:00	0	0	458
222	10	25	75	75	16.02.2013	VI	22:00	0	0	186
223	11	30	90	86	16.02.2013	VI	22:00	0	0	80,4
224	12	22	74	83	16.02.2013	VI	22:00	0	0	284
225	1	22	52	59	17.02.2013	I	19:00	0,561	0,563	158
226	2	32	79	87	17.02.2013	I	19:00	0,622	0,63	286
227	3	30	72	81	17.02.2013	I	19:00	1,047	1,095	514
228	4	21	75	75	17.02.2013	I	19:00	0,99	1	514
229	5	27	62	66	17.02.2013	I	19:00	0,752	0,752	324

164	12	22	74	83	16.02.2013	I	10:00	1,412	1,409	2050
165	1	22	52	59	16.02.2013	II	11:00	1,201	1,215	637
166	2	32	79	87	16.02.2013	II	11:00	1,232	1,239	774
167	3	30	72	81	16.02.2013	II	11:00	1,067	1,088	1140
168	4	21	75	75	16.02.2013	II	11:00	0,516	0,516	1030
169	5	27	62	66	16.02.2013	II	11:00	0,64	0,643	471
170	6	24	78	86	16.02.2013	II	11:00	0,88	0,801	1110
171	7	28	65	76	16.02.2013	II	11:00	0,802	0,795	477
172	8	21	56	62	16.02.2013	II	11:00	0,471	0,474	605
173	9	26	71	72	16.02.2013	II	11:00	1,038	1,056	897
174	10	25	75	75	16.02.2013	II	11:00	0,616	0,624	651
175	11	30	90	86	16.02.2013	II	11:00	1,135	1,143	884
176	12	22	74	83	16.02.2013	II	11:00	1,254	1,254	2430
177	1	22	52	59	16.02.2013	III	12:00	1,121	1,11	708
178	2	32	79	87	16.02.2013	III	12:00	1,084	1,101	994
179	3	30	72	81	16.02.2013	III	12:00	0,461	0,971	1380
180	4	21	75	75	16.02.2013	III	12:00	0,354	0,357	846
181	5	27	62	66	16.02.2013	III	12:00	0,55	0,551	420
182	6	24	78	86	16.02.2013	III	12:00	0,683	0,685	1190
183	7	28	65	76	16.02.2013	III	12:00	0,747	0,75	617
184	8	21	56	62	16.02.2013	III	12:00	0,249	0,251	542
185	9	26	71	72	16.02.2013	III	12:00	1,008	1,017	1280
186	10	25	75	75	16.02.2013	III	12:00	0,443	0,447	706
187	11	30	90	86	16.02.2013	III	12:00	0,992	1,002	824
188	12	22	74	83	16.02.2013	III	12:00	1,099	1,118	2360
189	1	22	52	59	16.02.2013	IV	14:00	0,855	0,866	852
190	2	32	79	87	16.02.2013	IV	14:00	0,745	0,76	1240
191	3	30	72	81	16.02.2013	IV	14:00	0,652	0,658	2240
192	4	21	75	75	16.02.2013	IV	14:00	0	0,054	853
193	5	27	62	66	16.02.2013	IV	14:00	0,22	0,22	733
194	6	24	78	86	16.02.2013	IV	14:00	0,356	0,356	1530
195	7	28	65	76	16.02.2013	IV	14:00	0,455	0,462	983
196	8	21	56	62	16.02.2013	IV	14:00	0	0	567

131	13	24	87	46	25.02.2013	IV	10:30	0,343	0,346	422
132	14	26	98	51	25.02.2013	IV	10:30	0,362	0,365	495
133	15	22	66	35	25.02.2013	IV	10:30	0,224	0,222	360
134	16	23	68	35	25.02.2013	IV	10:30	0,495	0,502	452
135	17	25	77	40	25.02.2013	IV	10:30	0,227	0,23	398
136	18	21	58	31	25.02.2013	IV	10:30	0,167	0,17	396
137	19	23	48	28	25.02.2013	IV	10:30	0,474	0,479	332
138	20	32	72	40	25.02.2013	IV	10:30	0,315	0,134	537
139	21	21	68	35	25.02.2013	IV	10:30	0,058	0,058	211
140	22	36	80	39	25.02.2013	IV	10:30	0,352	0,357	613
141	1	22	52	59	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
142	2	32	79	87	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
143	3	30	72	81	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
144	4	21	75	75	16.02.2013	0	08:00	0	0	758
145	5	27	62	66	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
146	6	24	78	86	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
147	7	28	65	76	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
148	8	21	56	62	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
149	9	26	71	72	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
150	10	25	75	75	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
151	11	30	90	86	16.02.2013	0	08:00	0	0	0
152	12	22	74	83	16.02.2013	0	08:00	0	0	2660
153	1	22	52	59	16.02.2013	I	10:00	1,289	1,306	345
154	2	32	79	87	16.02.2013	I	10:00	0,93	0,947	442
155	3	30	72	81	16.02.2013	I	10:00	1,264	1,282	510
156	4	21	75	75	16.02.2013	I	10:00	0,69	0,692	693
157	5	27	62	66	16.02.2013	I	10:00	0,684	0,678	234
158	6	24	78	86	16.02.2013	I	10:00	0,932	0,944	548
159	7	28	65	76	16.02.2013	I	10:00	0,669	0,667	208
160	8	21	56	62	16.02.2013	I	10:00	0,65	0,646	349
161	9	26	71	72	16.02.2013	I	10:00	0,832	0,838	344
162	10	25	75	75	16.02.2013	I	10:00	0,684	0,692	320
163	11	30	90	86	16.02.2013	I	10:00	1,102	1,126	465

98	20	32	72	40	25.02.2013	0	08:00	0	0	193
99	21	21	68	35	25.02.2013	0	08:00	0	0	142
100	22	36	80	39	25.02.2013	0	08:00	0	0	175
101	13	24	87	46	25.02.2013	I	09:00	0,624	0,634	278
102	14	26	98	51	25.02.2013	I	09:00	0,534	0,542	347
103	15	22	66	35	25.02.2013	I	09:00	0,507	0,51	134
104	16	23	68	35	25.02.2013	I	09:00	0,752	0,761	207
105	17	25	77	40	25.02.2013	I	09:00	0,378	0,377	183
106	18	21	58	31	25.02.2013	I	09:00	0,474	0,481	185
107	19	23	48	28	25.02.2013	I	09:00	0,516	0,52	154
108	20	32	72	40	25.02.2013	I	09:00	0,386	0,387	213
109	21	21	68	35	25.02.2013	I	09:00	0,23	0,233	133
110	22	36	80	39	25.02.2013	I	09:00	0,448	0,456	247
111	13	24	87	46	25.02.2013	II	09:30	0,503	0,505	347
112	14	26	98	51	25.02.2013	II	09:30	0,56	0,564	374
113	15	22	66	35	25.02.2013	II	09:30	0,445	0,459	226
114	16	23	68	35	25.02.2013	II	09:30	0,769	0,743	300
115	17	25	77	40	25.02.2013	II	09:30	0,403	0,403	271
116	18	21	58	31	25.02.2013	II	09:30	0,378	0,38	284
117	19	23	48	28	25.02.2013	II	09:30	0,644	0,646	240
118	20	32	72	40	25.02.2013	II	09:30	0,605	0,583	379
119	21	21	68	35	25.02.2013	II	09:30	0,206	0,207	210
120	22	36	80	39	25.02.2013	II	09:30	0,527	0,53	443
121	13	24	87	46	25.02.2013	III	10:00	0,416	0,42	436
122	14	26	98	51	25.02.2013	III	10:00	0,442	0,442	486
123	15	22	66	35	25.02.2013	III	10:00	0,305	0,306	341
124	16	23	68	35	25.02.2013	III	10:00	0,591	0,592	407
125	17	25	77	40	25.02.2013	III	10:00	0,299	0,3	364
126	18	21	58	31	25.02.2013	III	10:00	0,242	0,245	397
127	19	23	48	28	25.02.2013	III	10:00	0,553	0,565	298
128	20	32	72	40	25.02.2013	III	10:00	0,398	0,398	514
129	21	21	68	35	25.02.2013	III	10:00	0,096	0,098	223
130	22	36	80	39	25.02.2013	III	10:00	0,435	0,441	589

65	17	25	77	76	23.02.2013	VI	22:00	0	0	467
66	18	21	58	63	23.02.2013	VI	22:00	0	0	371
67	19	23	48	56	23.02.2013	VI	22:00	0	0	128
68	20	32	72	81	23.02.2013	VI	22:00	0	0	121
69	21	21	68	70	23.02.2013	VI	22:00	0	0	0
70	22	36	80	78	23.02.2013	VI	22:00	0	0	449
71	13	24	87	93	24.02.2013	I	19:00	0,693	0,697	174
72	14	26	98	102	24.02.2013	I	19:00	0,843	0,837	525
73	15	22	66	69	24.02.2013	I	19:00	0,457	0,454	184
74	16	23	68	70	24.02.2013	I	19:00	0,722	0,712	139
75	17	25	77	76	24.02.2013	I	19:00	0,518	0,519	223
76	18	21	58	63	24.02.2013	I	19:00	0,623	0,634	314
77	19	23	48	56	24.02.2013	I	19:00	0,55	0,548	142
78	20	32	72	81	24.02.2013	I	19:00	1,038	1,026	546
79	21	21	68	70	24.02.2013	I	19:00	0,825	0,836	371
80	22	36	80	78	24.02.2013	I	19:00	0,59	0,589	442
81	13	24	87	93	24.02.2013	II	21:00	0,658	0,681	604
82	14	26	98	102	24.02.2013	II	21:00	0,73	0,737	1350
83	15	22	66	69	24.02.2013	II	21:00	0,376	0,47	433
84	16	23	68	70	24.02.2013	II	21:00	0,601	0,614	490
85	17	25	77	76	24.02.2013	II	21:00	0,471	0,483	778
86	18	21	58	63	24.02.2013	II	21:00	0,446	0,453	814
87	19	23	48	56	24.02.2013	II	21:00	0,502	0,506	546
88	20	32	72	81	24.02.2013	II	21:00	0,819	0,828	1220
89	21	21	68	70	24.02.2013	II	21:00	1,284	1,301	1410
90	22	36	80	78	24.02.2013	II	21:00	0,583	0,576	1090
91	13	24	87	46	25.02.2013	0	08:00	0	0	218
92	14	26	98	51	25.02.2013	0	08:00	0	0	275
93	15	22	66	35	25.02.2013	0	08:00	0	0	0
94	16	23	68	35	25.02.2013	0	08:00	0	0	141
95	17	25	77	40	25.02.2013	0	08:00	0	0	136
96	18	21	58	31	25.02.2013	0	08:00	0	0	160
97	19	23	48	28	25.02.2013	0	08:00	0	0	114

32	14	26	98	102	23.02.2013	III	12:00	0,819	0,82	681
33	15	22	66	69	23.02.2013	III	12:00	0,391	0,395	799
34	16	23	68	70	23.02.2013	III	12:00	0,776	0,772	570
35	17	25	77	76	23.02.2013	III	12:00	0,976	0,972	1050
36	18	21	58	63	23.02.2013	III	12:00	0,697	0,704	787
37	19	23	48	56	23.02.2013	III	12:00	0,952	0,955	501
38	20	32	72	81	23.02.2013	III	12:00	0,833	0,834	1440
39	21	21	68	70	23.02.2013	III	12:00	0,443	0,447	830
40	22	36	80	78	23.02.2013	III	12:00	0,948	0,946	1870
41	13	24	87	93	23.02.2013	IV	14:00	0,455	0,456	1210
42	14	26	98	102	23.02.2013	IV	14:00	0,534	0,54	1590
43	15	22	66	69	23.02.2013	IV	14:00	0,094	0,094	484
44	16	23	68	70	23.02.2013	IV	14:00	0,404	0,403	765
45	17	25	77	76	23.02.2013	IV	14:00	0,699	0,709	1660
46	18	21	58	63	23.02.2013	IV	14:00	0,308	0,304	1110
47	19	23	48	56	23.02.2013	IV	14:00	0,612	0,618	619
48	20	32	72	81	23.02.2013	IV	14:00	0,518	0,518	1730
49	21	21	68	70	23.02.2013	IV	14:00	0,202	0,205	783
50	22	36	80	78	23.02.2013	IV	14:00	0,634	0,636	2420
51	13	24	87	93	23.02.2013	V	16:00	0,15	0,15	819
52	14	26	98	102	23.02.2013	V	16:00	0,284	0,28	1310
53	15	22	66	69	23.02.2013	V	16:00	0	0	324
54	16	23	68	70	23.02.2013	V	16:00	0,104	0,104	809
55	17	25	77	76	23.02.2013	V	16:00	0,43	0,43	1700
56	18	21	58	63	23.02.2013	V	16:00	0,075	0,075	914
57	19	23	48	56	23.02.2013	V	16:00	0,312	0,294	578
58	20	32	72	81	23.02.2013	V	16:00	0,182	0,18	1440
59	21	21	68	70	23.02.2013	V	16:00	0	0	425
60	22	36	80	78	23.02.2013	V	16:00	0,262	0,264	1700
61	13	24	87	93	23.02.2013	VI	22:00	0	0	334
62	14	26	98	102	23.02.2013	VI	22:00	0	0	311
63	15	22	66	69	23.02.2013	VI	22:00	0	0	0
64	16	23	68	70	23.02.2013	VI	22:00	0	0	221



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Ayni-Ahadi, Khatera

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Untersuchungen zur EtG Kinetik

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Anzing, 22.05.2022

Ort, Datum

Khatera Ayni- Ahadi

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand