

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

***Ethylglucuronid -  
Kinetik unter Alkoholbeeinflussung  
bei mehrtägiger Alkoholaufnahme***

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

vorgelegt von  
Paul Luger

aus  
Linz an der Donau

2024

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Matthias Graw

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Frank Mußhoff  
Prof. Dr. Franz Worek  
Prof. Dr. Bernhard Liebl

Dekan: Prof. Dr. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 07.03.2024

## Eidesstattliche Versicherung

Luger, Paul

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

„Ethylglucuronid - Kinetik unter Alkoholbeeinflussung bei mehrtägiger  
Alkoholaufnahme“

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.

Wien, 03.05.2024

---

Ort, Datum

Paul Luger

---

Unterschrift Doktorand

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1 Ethanol.....</b>	<b>2</b>
1.1.1 Übersicht .....	2
1.1.2 Pharmakokinetik Ethanol .....	2
<b>1.2 Alkoholkonsummarker .....</b>	<b>10</b>
<b>1.3 Ethylglucuronid .....</b>	<b>12</b>
1.3.1 Übersicht .....	12
1.3.2 Charakteristik .....	12
1.3.3 Pharmakokinetik EtG .....	14
1.3.4 Einsatzbereiche .....	15
<b>1.4 Ethylsulfat .....</b>	<b>17</b>
<b>2 Zielsetzung.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Hauptfragestellungen .....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Nebenfragenstellungen .....</b>	<b>20</b>
<b>3 Materialien und Methoden.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Studiendesign und ProbandInnenkollektiv .....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Einschlusskriterien zur Studienteilnahme.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3 Trinkversuche .....</b>	<b>23</b>
3.3.1 Versuchsaufbau .....	23
3.3.2 Versuchsablauf.....	25
<b>3.4 Instrumente .....</b>	<b>27</b>
3.4.1 Blutalkoholmessung.....	27
3.4.2 Messung von Ethylglucuronid und Ethylsulfat .....	28
3.4.3 Messdatenmodellierung .....	28
3.4.4 Statistische Analysen .....	30
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Stichprobe.....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 BAK- und EtG-Charakteristika .....</b>	<b>36</b>
4.2.1 Blutalkoholkonzentration.....	36
4.2.2 EtG-Konzentration .....	36
4.2.3 Korrelation von BAK- und EtG-Peak .....	37
<b>4.3 Modellanpassung der BAK- und EtG-Funktionen.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4 Pharmakokinetik .....</b>	<b>40</b>
4.4.1 Zusammenhänge der Ethanol- und EtG-Invasionskonstanten .....	42
4.4.2 k3-Modellprüfungen .....	43
4.4.3 Interkorrelationen der kinetischen Parameter .....	45
<b>4.5 Zusammenhang Trinkmenge und Verteilungskoeffizient .....</b>	<b>46</b>
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1 Limitationen .....</b>	<b>52</b>
<b>5.2 Ausblick .....</b>	<b>52</b>
<b>6 Zusammenfassung.....</b>	<b>53</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>55</b>
<b>8 Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>67</b>
<b>9 Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>68</b>
<b>Anhang.....</b>	<b>69</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>76</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung (Akronym)	Beschreibung ( <i>description</i> )
AAK	Atemalkoholkonzentration
ADH	Alkoholdehydrogenase
ALDH	Aldehyddehydrogenase
ANOVA	Varianzanalyse ( <i>analysis of variances</i> )
BAK	Blutalkoholkonzentration
BMI	Body Mass Index
$\beta$	Standardisierter Regressionskoeffizient
$\beta$ 60	Ethanolabbaurate
CDT	Carbohydrate-Deficient-Transferrin
CH <sub>3</sub> CHO	Acetaldehyd
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	Ethanol
DW	Durbin-Watson Statistik
EtG	Ethylglucuronid
EtS	Ethylsulfat
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
IQR	Interquartilsabstand ( <i>Interquatile Range</i> )
LC-MS/MS	Liquid-Chromatographie-MS/MS
<i>M</i>	Mittelwert ( <i>mean</i> )
max / min	Maximum / Minimum
<i>Md</i>	Median
MCV	Mittleres korpuskuläres Erythrocytenvolumen
MEOS	Mikrosomales ethanoxidierendes System
MS	Massenspektrometrie
n	Stichprobenumfang ( <i>sample size, number</i> )
NAD/ NADH	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (oxidierte/ reduzierte Form)
<i>p</i>	Signifikanzbeurteilung ( <i>probability</i> )
PEth	Phosphatidylethanol
<i>r</i>	Koeffizient der Produkt-Moment-Korrelation, Effektmaß
<i>R</i> <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß, erklärter Varianzanteil
RD	Resorptionsdefizit
<i>SD</i>	Standardabweichung ( <i>standard deviation</i> )
UDP	Uridindiphosphatidyl
VK	Verteilungskoeffizient
$\gamma$ GT	Gamma-Glutamyltransferase
<i>z</i>	Standardmesswert

# 1 Einleitung

## 1.1 Ethanol

### 1.1.1 Übersicht

Um einen Alkoholkonsum nachzuweisen, Trinkbehauptungen oder eine Alkoholabstinenz zu überprüfen, u.a. im Rahmen von Bewährungsaufgaben, eignet sich die Messung von Ethanol. Routinemäßig erfolgt bei forensischen Fragestellungen die Bestimmung aus dem Blutserum. Ethanol kann zudem auch in der abgeatmeten Atemluft als Atemalkoholkonzentration (AAK), oder auch in Urin und anderen Körperflüssigkeiten bzw. in unterschiedlichen Geweben im Körper nachgewiesen werden. Für die Bestimmung des Blutalkohols (BAK) eignet sich eine enzymatische Bestimmung von Ethanol über das Alkoholdehydrogenase (ADH)-Verfahren oder die Gaschromatographie (siehe 3.4.1 *Blutalkoholmessung*). Die Messung von Ethanol ist bezüglich eines stattgefundenen Alkoholkonsums mit einer guten Sensitivität und Spezifität verbunden, das Zeitfenster einer Nachweisbarkeit allerdings vergleichsweise eng. Ethanol gilt als Akutmarker eines stattgefundenen Konsums, d.h. einige Stunden später kann es bereits zu negativen Ergebnissen kommen<sup>1</sup>.

### 1.1.2 Pharmakokinetik Ethanol

#### 1.1.2.1 Ethanolresorption

Alkohol diffundiert aufgrund seiner hydrophilen Eigenschaften als wasserlösliches Molekül im Körper vor allem in wasserhaltige Gewebe oder Flüssigkeiten. Nach oraler Ingestion wird der aufgenommene Alkohol aufgrund der hohen Resorptionsfläche im Magen zu etwa 10% über dessen Schleimhaut resorbiert. Dieser Anteil ist vor allem abhängig vom Füllungszustand des Magens<sup>2</sup>. Der weit überwiegende und somit größere Anteil wird im Dünndarm (hauptsächlich im Duodenum) aufgenommen<sup>3,4</sup>. Die Diffusion von intramural nach intravasal folgt einem passiven Konzentrationsausgleich, bei Trunk einer größeren Alkoholmenge wird daher eine ebenso größere Menge an Ethanol in den Körper aufgenommen. Die Diffusionsgeschwindigkeit hängt unter anderem von der Durchblutung der Organe ab<sup>5</sup>. Auch die Ethanolkonzentration der alkoholischen Getränke beeinflusst die Resorption des Alkohols, was bei Trinkversuchen mit unterschiedlichen alkoholischen Getränken

nachgewiesen wurde<sup>6,7</sup>. So konnten beispielsweise Roine et al. in einer Studie zeigen, dass der Ethanolpeak bei Aufnahme von einem niederprozentigen, alkoholischen Getränk (z.B. Bier) zwar postprandial bzw. prandial höhere Spitzenwerte als bei Ingestion eines höherprozentigen alkoholischen Getränkes (z.B. Whiskey) erreichen kann, jedoch in präprandialem (nüchternem) Zustand sich dies gegenteilig verhält.<sup>6</sup>

Ebenso haben die Magenfüllung und die Pylorusfunktion einen maßgeblichen Effekt auf die Resorption des Ethanols im Dünndarm<sup>8,9</sup>. Die Ethanolresorption wird bei vorher stattgefundenener Nahrungsaufnahme, vor allem durch kalorienreiche und feste Nahrungsbestandteile, durch eine verzögerte Magenentleerung (bei geschlossenem Pylorus) verlangsamt<sup>10</sup>. Dies bewirkt eine verzögerte Resorption und langsamere Anflutung des Alkohols im Blut mit niedrigeren Spitzenwerten<sup>11,12</sup>. Auch ein stärkerer First-Pass Effekt der Leber bei vorher stattgefundenener Nahrungsaufnahme wird für reduzierte Ethanolkonzentrationen verantwortlich gemacht<sup>13</sup>. Nahrungszufuhr (v.a. kohlenhydratreiche Nahrung) nach stattgefundenener Alkoholingestion kann des Weiteren die anschließende Ethanolelimination beschleunigen<sup>14</sup>. Die Magenentleerung kann zudem durch einen Zigarettenkonsum, eine veränderte Gefühlslage oder schmerzhaft Erfahrungen beeinflusst werden<sup>15-17</sup>.

Verschiedenste Medikamente können die Ethanolkonzentration im Blut ebenfalls beeinflussen. Medikamente, welche die Motilität und Peristaltik im gastrointestinalen Trakt verändern und eine verlangsamte Magenentleerung bewirken, u.a. Substanzen mit anticholinergen Eigenschaften (u.a. Antidepressiva, Antihistaminika, Neuroleptika, usw.) können zu einer späteren Resorption des Ethanols im Dünndarm führen und den Ethanolmetabolismus insgesamt verlangsamen<sup>18-20</sup>. Das prokinetisch wirkende Antibiotikum Erythromycin kann zu einer beschleunigten Ethanolresorption führen. In verschiedenen Studien wurden teils widersprüchliche Effekte von Acetylsalicylsäure (Aspirin<sup>®</sup>) bei gleichzeitiger Alkoholaufnahme auf die resultierenden Ethanolkonzentrationen im Blut beobachtet. So zeigen zwei Studien bei Aspirin<sup>®</sup> erhöhte bzw. unveränderte Konzentrationen von Ethanol im Blut<sup>21,22</sup>. Eine andere Studie von Kachegias et al. zeigte bei dauerhafter, niedrig dosierter Applikation von Acetylsalicylsäure nach Ingestion von Ethanol hingegen eine reduzierte Ethanolkonzentrationen<sup>23</sup>. In anderen Studien zeigt sich, dass H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonisten der ersten Generation (beschrieben wurden Ranitidin und Cimetidin) bei gleichzeitiger Ethanolaufnahme über eine Hemmung des gastralen First-Pass Effekts erhöhte Ethanolkonzentrationen im Blut bewirken<sup>24,25</sup>.

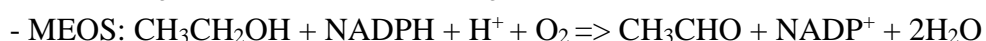
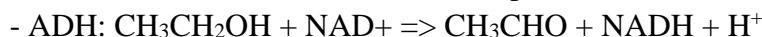
Theoretisch kann eine Aufnahme von Alkohol auch über die Mundschleimhaut und die Schleimhaut der Speiseröhre erfolgen. Da die Resorptionsfläche und Kontaktzeit hierbei aber gering ist, sind diese Diffusionswege allerdings zu vernachlässigen. Über die Haut (bei Kindern und bei größeren Hautverletzungen beschrieben) und durch Inhalation über die Atemwege kann eine Resorption von geringeren Mengen an Ethanol erfolgen<sup>26,27</sup>.

#### 1.1.2.2 Ethanolelimination

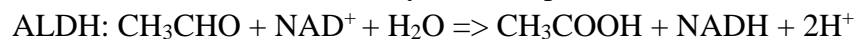
Bereits während der Resorption und der anschließenden Distribution (Verteilung) des Ethanols im Körper, welche v.a. vom Wassergehalt des Gewebes abhängt, erfolgt unmittelbar dessen Metabolisierung und Abbau. Etwa 95% des aufgenommenen Ethanols werden enzymatisch in der Leber über mehrere Schritte metabolisiert<sup>28</sup>. Im ersten Schritt wird Ethanol zu Acetaldehyd oxidiert. Diese Reaktion erfolgt im Körper über drei verschiedene Enzymsysteme, welche anhand der unterschiedlichen intrazellulären Lokalisation unterschieden werden. Das im ersten Schritt gebildete Acetaldehyd (siehe nachfolgendes Schema) wird anschließend, durch die Aldehyddehydrogenase (ALDH) katalysiert, zu Acetat verstoffwechselt, welches im letzten Schritt extrahepatisch zu Wasser und Kohlendioxid oxidiert wird.

Übersicht des enzymatischen Abbaus von Ethanol:

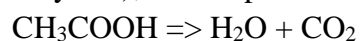
1. Schritt: Oxidation des Ethanols; intrahepatisch



2. Schritt: Oxidation des Acetaldehyd; intrahepatisch



3. Schritt: Oxidation des Acetats (Essigsäure) im Zitronensäurezyklus (Citratzyklus); extrahepatisch



Der enzymatische Abbau von Ethanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) zu Acetaldehyd ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ) erfolgt hauptsächlich über die Alkoholdehydrogenase (ADH) im Zytosol, abhängig vom Kofaktor Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid ( $\text{NAD}^+$ ), welches zu NADH reduziert wird. ADH kommt beim Menschen in acht verschiedenen Isoenzymformen vor, welche eine unterschiedliche Gewebeverteilung wie auch kinetische Eigenschaften aufweisen<sup>29,30</sup>.



Dieser Abbauweg wird limitiert durch die Reoxidation des gebildeten NADH zu NAD<sup>+</sup> unter Oxidation von Pyruvat zu Laktat bzw. Oxalacetat zu Malat. Die anfallenden reduzierten Verbindungen wie Laktat sowie das NADH inhibieren die Gluconeogenese und den Zitronensäurezyklus in der Leber, was einen aufkommenden Heißhunger nach stattgehabtem Alkoholkonsum erklärt.

Weitere Abbauwege der ersten Stufe sind das Katalasesystem in den Peroxisomen der Zelle und der Abbauweg der Cytochrom P450 abhängigen Mikrooxygenase im mikrosomalen ethanoxidierenden System (MEOS) im Endoplasmatischen Retikulum, welche beide etwa 5-10% des enzymatischen Ethanolabbaus ausmachen und Ethanol erst bei höheren Alkoholkonzentrationen ab etwa 1 Promille metabolisieren<sup>3</sup>. Bei chronischem Alkoholkonsum kann durch eine Induktion des Cytochrom P450-2E1 Enzyms des MEOS eine höhere Eliminationsrate erreicht werden (metabolische Toleranz)<sup>3,31-34</sup>. Auch Nikotin kann das CYP450-2E1 des MEOS induzieren<sup>32</sup>.

Im zweiten Schritt katalysiert die ALDH die Oxidation von Acetaldehyd zu Acetat.

Beim Menschen wurden verschiedene Isoenzyme der ALDH nachgewiesen, welche eine unterschiedliche Gewebeverteilung und kinetische Eigenschaften für den Abbau von Acetaldehyd aufweisen. In der asiatisch stämmigen Bevölkerung wird ein atypisches und inaktives ALDH2 Isoenzym für einen protrahierten Ethanolabbau und höhere Acetaldehydspiegel verantwortlich gemacht<sup>35-38</sup>. Die erhöhte Konzentration des giftigen Metaboliten kann sich durch Übelkeit und Sodbrennen oder Erbrechen, Kopfschmerz und Schwindel, Erröten (Flushing) im Gesicht oder auch anderer Körperpartien sowie durch kardiale Arrhythmie äußern<sup>39,40</sup>. Diese Symptome einer Alkoholunverträglichkeit (als Flushing-Symptom bezeichnet) werden bei ca. 36% der ostasiatischen Bevölkerung (China, Japan, Korea) und 5% der kaukasischen Bevölkerung beobachtet<sup>41</sup>.

Im letzten Schritt wird Acetat zu Wasser und Kohlendioxid oxidiert, in den Zitronensäurezyklus (Citratzyklus) eingeschleust oder zu anderen Stoffwechselprodukten wie Fettsäuren umgebaut.

Etwa 1-5% des aufgenommenen Ethanols werden direkt und unverändert über die Atemwege und über Körperflüssigkeiten wie Urin, Schweiß und Tränenflüssigkeit abgegeben<sup>18</sup>. Durch Diffusion wird Ethanol von der Pulmonalarterie in die Atemluft abgegeben, worüber eine Atemalkoholkonzentration (AAK) mit guter Näherung an eine entsprechende Blutalkoholkonzentration (BAK) errechnet werden kann<sup>42</sup>.

In mehreren Trinkversuchen wurde dieser Zusammenhang untersucht: Durch Multiplikation der AAK mit einem experimentellen Faktor 2.1 lässt sich die BAK näherungsweise mathematisch abschätzen. Dieses Umrechnungsmodell findet u.a. bei Straßenverkehrskontrollen im Bereich der Ordnungswidrigkeit Anwendung, bzw. kann vor einer Blutabnahme als Vortest dienen<sup>43</sup>.

Auch über die Ausscheidung des Ethanol im Urin lassen sich Rückschlüsse auf den Alkoholkonsum erstellen. Eine geringe Menge von ca. 0,5% des aufgenommenen Ethanol wird nicht-oxidativ über verschiedene Enzymsysteme an körpereigene Stoffe konjugiert. Dadurch entstehen so genannte Phase-II-Metaboliten des Ethanol (siehe *1.2 Alkoholkonsummarker*), welche anschließend über die Niere ausgeschieden werden und im Urin nachgewiesen werden können<sup>3</sup>.

### 1.1.2.3 Berechnungsmodelle

Während Alkohol noch getrunken wird überwiegt anfangs die Resorption und Invasion (Anflutung im Körperkreislauf) von Ethanol im Blut. Der Anstieg des Blutalkohols und die ermittelte Steigung hängen u.a. von der Magenfüllung (siehe *1.1.2.1 Ethanolresorption*), der Alkoholmenge und der Trinkgeschwindigkeit ab und können somit stark variieren. Selten wird die Gesamtmenge an Alkohol über einen single Bolus ingestiert, sondern über einen längeren Zeitraum mehr oder weniger konstant aufgenommen. Während Alkohol noch getrunken wird, erfolgt zeitgleich bereits der Abbau von in der Leber (siehe *1.1.2.2 Ethanolelimination*).

Ein Anteil des getrunkenen Alkohols gelangt zudem nach Resorption im Verdauungstrakt direkt über die Pfortader in die Leber und wird dort zum Teil abgebaut, bevor dieser Ethanolanteil in den systemischen Körperkreislauf gelangen kann ("first-pass-effect"). In einem theoretischen, mathematischen Modell ergeben sich dadurch, verglichen mit der Praxis, höhere maximal erreichte Spitzenwerte. Die Differenz des in einem mathematischen Modell, theoretisch errechneten und des tatsächlichen erreichten Maximalwertes der BAK wird als sogenanntes Resorptionsdefizit beschrieben. Das Resorptionsdefizit ist ebenso abhängig von der Magenfüllung. Bei einem leeren Magen kann das Resorptionsdefizit in Kombination mit höherprozentigen Alkohol niedriger ausfallen, wohingegen bei vollem Magen niedrigere Spitzenwerte erreicht werden und die Blutalkoholkurve insgesamt flacher verläuft<sup>3,44</sup>. Bei einem vollen Magen kann sich der Maximalwert der Blutalkoholkurve so auch als längeres

Plateau äußern, bis die Ethanolkonzentration bei Überwiegen der Elimination abfällt. Das Resorptionsdefizit fällt des Weiteren bei höherprozentigen alkoholischen Getränken (u.a. Schnaps, Wodka) mit ca. 10% i. d.R. niedriger aus als bei niederprozentigen Getränken (z.B. Bier oder Wein) mit bis zu 30%<sup>3,45,46</sup>. Lt. Spann et al. sind abhängig von der Magenfüllung und dem alkoholischen Getränk "Extremwerte zwischen 0% und 50% rechnerisch nicht auszuschließen"<sup>45</sup>.

Der Abfall der Blutalkoholkonzentration nach Erreichen des Maximalwertes zeigt an, dass die Elimination von Ethanol die Resorption/ Invasion übersteigt und nicht, dass dessen Resorption bereits beendet ist. Die Geschwindigkeit der Ethanolelimination ist von der Alkoholkonzentration im Blut dosisunabhängig und kann auch nicht über seinen Maximalwert weiter ansteigen. Durch eine vollständige Sättigung der für die Reoxidation von NADH<sup>+</sup> benötigten Enzyme (siehe *1.1.1.2 Ethanolelimination*) ergibt sich auch bei hohen Ethanolkonzentrationen ein annähernd kontinuierlicher Abbau, beinahe linear anhand einer linearen Regressionsgerade beschreibbar (Kinetik 0. Ordnung)<sup>3,47</sup>. Als  $\beta_{60}$ -Wert ( $\beta_{60}$ ) wird dieser stündliche, im mathematischen Modell einer Regressionsgerade entsprechend, konstante und lineare Abbau beschrieben.

Der stündliche Abbau von Ethanol zeigt teils erhebliche interindividuelle Unterschiede, abhängig von u.a. Geschlecht, Trinkgewohnheiten und genetischer Prädisposition. Studien zeigten auch eine Abhängigkeit der Eliminationsrate von der Trinkmenge, mit einer höheren Eliminationsrate bei Konsum höherer Dosen an Alkohol<sup>48,49</sup>.

Auch hormonelle Schwankungen, u.a. der weibliche Menstruationszyklus, können einen Einfluss auf die Ethanolmetabolisierung haben. Dettling et al. konnten in Trinkversuchen zeigen, dass die stündliche Ethanoleliminationsrate ( $\beta_{60}$ ) bei Frauen im Vergleich zu Männern höher ausfällt und dass bei Frauen mit höheren Progesteronspiegeln ein höherer  $\beta_{60}$ -Wert vorliegt als bei Frauen mit niedrigeren Progesteronspiegeln im Blut<sup>50,51</sup>. In Tierversuchen wurden bei Applikation von Östrogen erhöhte ADH-Funktionen in der Leber und damit schnellere Abbauraten erreicht<sup>52-54</sup>.

Durchschnittlich liegen Abbauraten von etwa 0,15-0,17 Promille pro Stunde vor, wobei im forensischen Bereich ein Mindestabbau von 0,1 Promille und eine maximale Abbaurate von 0,2-0,3 Promille (u.a. bei chronischem Alkoholkonsum) in Betracht gezogen werden<sup>3,55</sup>, so können Alkoholiker eine 1,5-fach schnellere Eliminationsrate aufweisen<sup>56</sup>. Nach etwa 0,15-0,2 Promille Restalkohol im Körper verläuft der Abbau von Ethanol nonlinear, annähernd exponentiell und nähert sich der Abszisse<sup>3,57</sup>. Unter Annahme einer durchschnittlichen Abbaurate von 0,2 Promille wäre demnach bei einer

Ausgangsdosis von 4,0 Promille (tödliche Dosis) die Blutalkoholkonzentration nach ca. 20 Stunden komplett abgebaut.

Zur Beschreibung der Alkoholkinetik hat sich das Widmark-Modell<sup>58</sup> unter verschiedenen mathematischen Modellen in der forensischen Praxis gut bewährt. Über die Widmark-Formel lassen sich maximale, theoretisch erreichbare Blutalkoholkonzentrationen nach Ingestion von Alkohol errechnen. Diese Formel kann bei Nachtrunkbehauptungen (u.a. wenn angegeben wird, Alkohol erst nach einem Tatbestand konsumiert zu haben) zur Überprüfung und Beurteilung der tatsächlich getrunkenen Trinkmenge oder auch bei Trinkversuchen vorab zur Berechnung der zu trinkenden Alkoholmenge verwendet werden. Über retrograde Extrapolation lässt sich mit dem Modell durch Angaben der Trinkzeit die getrunkene Alkoholmenge ermitteln. Folgende angepasste Widmark-Formel kann zu Berechnungszwecken dienen:

$$\text{Angepasste Widmark-Formel: } b = e / (r \times m) - t \times \beta_{60}$$

- b BAK in ‰ (Promille)
- e Menge des getrunkenen Ethanols in g
- r Verteilungsfaktor (Widmarkfaktor)
- m Körpermasse in kg
- t Zeit in h, welche seit Trinkbeginn vergangen ist
- $\beta_{60}$  Stündliche Elimination

#### 1.1.2.4 Berechnung der Blutalkoholkonzentration

Die Blutalkoholkonzentration wird üblicherweise aus dem Serum bzw. Plasma, d.h. dem flüssigen Anteil des Blutes - ohne feste Bestandteile wie Blutzellen - gemessen und in g/l (auf Serum bezogen) angegeben. Hierzu ist das Vollblut, welches alle Blutbestandteile wie Zellen, Gerinnungsfaktoren und Serum beinhaltet, zunächst zu zentrifugieren. Nach Entfernung der Zellen und Gerinnungsfaktoren entspricht dieser Überstand dem reinen, gelblich aussehenden Blutserum. Blutplasma erhält man ebenso nach Zentrifugation von Vollblut, jedoch unter Hinzugabe von Antikoagulantien (z.B. EDTA/ Heparin/ Citrat), welche eine Blutgerinnung verhindern – Plasma entspricht somit dem Serum inkl. aller Gerinnungsfaktoren. Die Alkoholkonzentration wird durch das ADH-Verfahren bzw. durch eine Gaschromatographie (siehe 3.4.1 *Blutalkoholmessung*) aus dem Serum/ Plasma gemessen. Für forensische Zwecke<sup>59</sup> wird die BAK in einem Gutachten/ Befundbericht üblicherweise jedoch in g/kg ("Promille"), bezogen auf Vollblut angegeben, was unter Berücksichtigung des Verteilungsverhältnisses von Wasser (Dichte) einige Umrechnungsschritte voraussetzt:

1) Zuerst muss die Serum-Ethanolkonzentration in g/l auf g/kg umgerechnet werden. Dies erfolgt über folgenden Ausdruck:

$$C_S \text{ (in g/l) / spez. Gewicht (Serum)} = C_S \text{ (in g/kg)}$$

$$C_S = \text{Ethanolkonzentration im Serum; spezifisches Gewicht (Serum)} = 1.03$$

2) In einem zweiten Schritt erfolgt die Umrechnung auf BAK (bezogen auf Vollblut):

$$C_S \text{ (in g/kg) / 1.2} = \text{BAK (in g/kg)}$$

$$\text{BAK} = \text{Blutalkoholkonzentration in g/kg} = \text{"Promille"}$$

Durch Division der Serumethanolkonzentration (in g/l) durch den Faktor 1.236 (1.03 x 1.2) erhält man die in der Forensik üblich angegebene BAK in Promille. Wird die Ethanolmessung aus Vollblut statt Serum/ Plasma vorgenommen, so wird die auf diese Weise ermittelte Konzentration mit dem Faktor 1.06 dividiert (Dichte von Vollblut) und in g/kg angegeben.<sup>59,60</sup>

#### 1.1.2.5 Ethanoldistribution

Um eine differenzierte Berechnung der Alkoholmengen bzw. der Alkoholkonzentrationen im Blut zu ermöglichen, sollten intra- und interindividuelle Faktoren wie die Verteilung (Distribution) des Alkohols im Körper berücksichtigt werden. Ethanol folgt seinen hydrophilen Eigenschaften und verteilt sich vor allem im Körperwasser und weniger im Körperfett<sup>61</sup>. Dadurch ergeben sich interindividuelle Unterschiede, abhängig von der Konstitution eines Menschen. Geschlechterabhängig resultiert eine unterschiedliche Verteilung von Ethanol im Körper (Verteilungsvolumen) bei Verabreichung gleicher Alkoholmengen, da Frauen im Allgemeinen einen höheren Körperfettanteil aufweisen<sup>62</sup>. Auch bei Anpassung der Alkoholmengen an das Körpergewicht von ProbandInnen wurden in mehreren Studien höhere Alkoholkonzentrationen bei Frauen erreicht<sup>63,64</sup>. Erst bei Berücksichtigung des interindividuellen Körperwassergehaltes konnten bei Goist et al. gleiche Alkoholkonzentrationen bei Frauen und Männern erreicht werden<sup>65</sup>.

Gemäß Widmark ist aufgrund der unterschiedlichen Verteilungsvolumina ein Verteilungskoeffizient (VK), auch als Widmarkfaktor bezeichnet, von 0.55 - 0.6 bei Frauen und 0.65 - 0.7 bei Männern in der Formel zu berücksichtigen. Diese Werte sollten ggf.

abhängig von der Konstitution oder des Broca-Index, u.a. bei fettleibigen Männern oder muskulöseren Frauen angepasst werden<sup>66</sup>.

Ulrich et al.<sup>67</sup> sowie Seidl & Alt<sup>68</sup> schlagen daher statt dem Widmarkfaktor für die oben angeführte Berechnungsgrundlage individuellere Verteilungsfaktoren, abhängig von Körpergewicht und Körpergröße, vor:

$$\text{Ulrich et al.: } r (\text{männlich}) = 0.715 - 0.00462 \times m + 0.0022 \times l$$

$$\text{Seidl \& Alt: } r (\text{weiblich}) = 0.31233 - 0.006446 \times m + 0.004466 \times l$$

$$\text{Seidl \& Alt: } r (\text{männlich}) = 0.31608 - 0.004821 \times m + 0.004432 \times l$$

r	Verteilungsfaktor
m	Körpergewicht in kg
l	Körperlänge in cm

Coffein oder Nikotin, schwankende Hormonkonzentrationen im Blut (u.a. bei Stressreaktionen) können die Durchblutung von Geweben verändern und über Wasserverschiebungen die Distribution von Ethanol im Körper beeinflussen<sup>69,70</sup>. Bei solchen Wasserverschiebungen, aber auch bei einer Aufnahme großer Mengen alkoholischer Getränke, einer schnelleren Trinkgeschwindigkeit oder auch bei leerem Magen kann die Blutalkoholkurve zuerst stark ansteigen (sogenannter Sturztrunk), gefolgt von einem raschen Abfall, dem so genannten Diffusionssturz<sup>3</sup>.

## 1.2 Alkoholkonsummarker

Neben dem Nachweis von Ethanol selbst gibt es verschiedene Möglichkeiten einen stattgehabten Alkoholkonsum über sogenannte Alkoholkonsummarker zu belegen bzw. zu beurteilen. Diese Alkoholkonsummarker können eine akute Alkoholingestion oder auch den chronischen Konsum von Alkohol über einen längeren Zeitraum anzeigen. Man unterscheidet direkte von indirekten Markern, Kurzzeit(Akut)-Marker, Intermediärmarker und Langzeitmarker. Ethanol selbst ist aufgrund seiner raschen Elimination im Blut nur kurz nachweisbar und eignet sich daher nur als Akutmarker. Zum Nachweis eines chronischen, über einen längeren Zeitraum stattgefundenen Konsums (i.d.R. > 2 Wochen) eignen sich sogenannte Langzeitmarker wie z.B. das Carbohydrate-Deficient-Transferrin (CDT). Nach dem letzten stattgefundenen Alkoholkonsum beträgt die Halbwertszeit von CDT etwa 14 Tage<sup>71-74</sup>. Zu den Langzeitmarkern zählen auch die Leberenzyme Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) sowie die Gamma-glutamyltransferase (yGT), welche nach exzessivem Alkoholkonsum erst nach etwa 2-5 Wochen Alkoholabstinenz wieder in den Normbereich zurückfällt<sup>75-77</sup>. Das Mittlere Korpuskuläre Erythrocytenvolumen (MCV) wird erst nach mehreren Monaten schweren Alkoholkonsums auffällig und zählt ebenso zu den Langzeitmarkern. Diese Langzeitmarker werden auch als indirekte Alkoholkonsummarker bezeichnet, da sie nicht direkt aus Ethanol selbst gebildet werden, sondern bei chronischer Alkoholttoxizität durch Zellschäden oder Enzyminduktion entstehen<sup>76</sup>. Langzeitmarker eignen sich somit, um einen Alkoholkonsum über längere Zeit zu bestätigen. Die Sensitivität wie auch Spezifität der Langzeitmarker ist allerdings auf ihr Zeitfenster und die zugrunde liegende Fragestellung stark eingeschränkt, besonders falsch positive Ergebnisse kommen häufig vor<sup>56,78</sup>. So können beispielsweise CDT und die oben genannten Leberfunktionsparameter auch bei Lebererkrankungen/ Gallenwegserkrankungen oder bei Konsum bestimmter Medikamente ansteigen. MCV kann bei Folsäuremangel oder Vitamin-B12-Mangel ansteigen<sup>1,56,79-81</sup>.

Als direkte Alkoholkonsummarker werden – neben Ethanol selbst als wohl direktesten Marker für einen Alkoholkonsum – im Körper gebildete Stoffe bezeichnet, welche nur in Anwesenheit von Ethanol gebildet werden. Es handelt sich hierbei in der Regel um sogenannte Phase-II-Metaboliten. Durch Konjugation von körpereigenen Stoffen an Ethanol werden die Produkte wasserlöslich gemacht und können renal ausgeschieden werden<sup>82</sup>. Eine solche Biotransformation erfolgt insbesondere bei der Ausscheidung (Entgiftung) hydrophober Substanzen aus dem Körper (u.a. Medikamente oder Hormone). Zu den direkten Alkoholkonsummarkern gehört der Langzeitmarker Phosphatidylethanol (PEth), die Kurzzeitmarker aus der Gruppe der Fettsäureethylester, und die Intermediärmarker Ethylglucuronid (EtG) und Ethylsulfat (EtS). Der Marker Phosphatidylethanol hat eine Halbwertszeit von etwa 4 Tagen und weist eine exzellente Sensitivität wie auch Spezifität auf<sup>83,84</sup>. Fettsäureethylester können über 24 h nach Abstinenz noch im Blut nachgewiesen werden und durch Bestimmung aus den Haaren auch einen dauerhaften Alkoholkonsum belegen<sup>85-87</sup>. Eine detaillierte Beschreibung der Intermediärmarker EtG und EtS folgt in den nächsten Kapiteln.

## 1.3 Ethylglucuronid

### 1.3.1 Übersicht

Ethylglucuronid (EtG) weist die Summenformel  $C_8H_{14}O_7$  auf. Im Jahr 1952 wurde EtG erstmals im Urin von Hasen nachgewiesen<sup>88</sup>, 1967 wurde EtG von Jaakonmaki et al. im menschlichen Urin bestimmt und 1973 erstmals von Kozu et al. gaschromatographisch gemessen<sup>89,90</sup>.

EtG ist bei kürzlich erfolgter Aufnahme bereits minimaler Mengen von Alkohol nachweisbar<sup>91-93</sup>. Es ist auch dann noch nachweisbar, wenn bereits keine Ethanolkonzentration im Blut mehr gemessen werden kann<sup>91,94,95</sup>. EtG wird dosisabhängig von der aufgenommenen Ethanolmenge bzw. der erreichten Blutalkoholkonzentration gebildet und ist zeitlich verzögert zur Ethanolkonzentration im Blut nachweisbar (siehe *1.3.3 Pharmakokinetik*).

EtG ist ein Phase II-Metabolit des Ethanolstoffwechsels und direkter Alkoholkonsummarker mit guter Sensitivität und Spezifität, da dieser in vivo in erster Linie nur nach stattgefundenem Alkoholkonsum aus Ethanol gebildet wird. EtG entsteht im Körper durch Konjugation von aktivierter Uridindiphosphatidyl(UDP)-Glucuronsäure an Ethanol. Etwa 0,02 - 0,04% des aufgenommenen Ethanols werden nicht-oxidativ über UDP-Glucuronyl-transferasen, von zwei Isoenzym-Klassen (UGT1A und UGT2B) mit mindestens 12 verschiedenen Isoformen, zu EtG konjugiert<sup>96-99</sup>. Diese Glucuronyltransferasen finden sich im Endoplasmatischen Retikulum verschiedener Organe wie Leber, Niere, Haut, Magen-Darm Epithel und Gehirn<sup>100-102</sup>. Glucuronyltransferasen und Sulfonyltransferasen (siehe *1.4 Ethylsulfat*) im menschlichen Körper unterliegen einem Polymorphismus, wodurch inter- und intraindividuelle Unterschiede in der Bildung von EtG und EtS erwartet werden müssen<sup>101,103-111</sup>. Bisher wurde keine Sättigung dieser Enzymsysteme nachgewiesen, wonach von einer Korrelation zwischen steigendem Alkoholkonsum und höherer EtG-Konzentration auszugehen ist<sup>94,95,112-115</sup>.

### 1.3.2 Charakteristik

EtG ist ein wasserlösliches Molekül und wird renal ausgeschieden. Bei Nierenschädigung/ Nierenerkrankungen kann es durch eine langsamere Eliminationsrate länger im Blut detektierbar sein<sup>112</sup>. Durch glomeruläre Filtration im Nierenkörperchen



und Anreicherung eines Primärfiltrats im Urin sind die EtG-Konzentrationen im Urin etwa 100-fach höher als die gemessenen EtG-Konzentrationen im Serum<sup>116</sup>.

EtG kann sowohl im Blutserum, Urin, in Haaren, Nägeln, Zähnen sowie im Speichel nachgewiesen werden<sup>117-122</sup>. Auch post mortem lassen sich mit guter Sensitivität EtG-Konzentrationen im Leichenblut bzw. Leichenurin nachweisen.

Eine Bestimmung von EtG in Haaren ist v.a. zur Beurteilung eines längerfristig zurückliegenden Konsums geeignet. EtG kann nach stattgehabtem Alkoholkonsum mehrere Wochen, bis sogar etwa 3 Monate danach noch in Haarproben nachgewiesen werden<sup>123-129</sup>. EtG im Urin und in Haaren wird in forensischen Fragestellungen neben Alkohol als direkter Alkoholkonsummarker zur Überprüfung einer Alkoholabstinenz eingesetzt<sup>130</sup>.

EtG wird üblicherweise mittels Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS/ MS) bestimmt<sup>131-134</sup>. Die Bestimmung von EtG kann auch immunochemisch erfolgen, entsprechende Kreuzreaktionen sind bei diesem Verfahren allerdings beschrieben<sup>135-137</sup>.

Eine post mortem Neubildung von EtG im Leichenkörper und somit falsch positive Ergebnisse bei Leichenproben konnten bisher in Studien nicht festgestellt werden<sup>138,139</sup>. Schloegl et al. zeigten, dass nach 4 Wochen Lagerung von Urinproben, bei korrekter Lagerung mit etwa 4 Grad, keine Konzentrationsänderung von EtG erfolgt. Weder kommt es zu einer post mortem Neubildung, noch zu Zersetzungsprozessen nach Lagerung<sup>138</sup>.

Allerdings kann es durch Fäulnisprozesse und durch falsche Probenlagerung, u.a. bei ungekühlten Proben, zu falsch negativen, nicht mehr nachweisbaren EtG-Konzentrationen kommen. Es wurden mehrere Bakterienstämme nachgewiesen, die EtG über eine vorhandene  $\beta$ -Glucuronidase-Aktivität hydrolysieren können, u.a. E. coli, einer der häufigsten Erreger eines Harnwegsinfektes beim Menschen<sup>139,140</sup>. Fehlende oder falsch niedrige EtG-Konzentrationen im Urin trotz Alkoholkonsum könnten demnach z.B. bei Patienten mit Harnwegsinfekten nicht ausgeschlossen werden. Nach einer Studie von Baranowski et al. wird EtG u.a. nach Inkubation von Leichenblut, Urin, Aszitespunktat, Leberproben oder z.B. mit verschiedenen Bakterienstämmen (u.a. E. coli, Klebsiella pneumoniae, etc.) nach 3-4 Tagen komplett hydrolysiert und kann im Gegensatz zum Phase II-Metaboliten Ethylsulfat danach nicht mehr nachgewiesen werden<sup>141</sup>.

Im Gegensatz zu indirekten Alkoholkonsummarkern sind falsch positive EtG-Werte aufgrund der direkten enzymatischen Konjugation, welche in vivo nur in Anwesenheit von Ethanol erfolgt unwahrscheinlich, jedoch nicht völlig auszuschließen. Durch Kontamination mit glucuronidasepositiven Mikroorganismen wie *E. coli* und *Candida albicans* in Glucose-angereicherten Urinproben kam es in mehreren Versuchen zu positiven EtG-Befunden, obwohl kein Alkohol getrunken wurde<sup>76,142</sup>. Eine artifizielle Bildung ist also durchaus denkbar und sollte bei der Berücksichtigung von Messergebnissen ggf. in Betracht gezogen werden.

EtG kann zudem bereits bei unbeabsichtigter Aufnahme kleinster Mengen von Alkohol in Nahrungsmitteln (Fruchtsäfte, Obst), Kosmetikprodukten, Arzneimitteln, oder z.B. Mundspülungen nachweisbar gemacht werden<sup>143-145</sup>. Bei einem cut-off-Wert von 0.1 mg/l zeigten Musshoff et al. nach Konsum von Bananen bis zu 3.5 h, bei Sauerkraut bis zu 5h und bei nicht alkoholischem Bier bis zu 13 h eine Nachweisbarkeit von EtG im Urin<sup>146</sup>. Auch Haarkosmetikprodukte können die Interpretation von EtG-Messungen aus Haaren beeinflussen und ggf. durch Auswascheffekte zu falsch negativen Befunden führen<sup>147</sup>.

### 1.3.3 Pharmakokinetik EtG

Etwa 2-5 h nach Trinkbeginn und etwa 0.5-3.5 h nach Erreichen des Maximalwertes von Ethanol im Blut zeigt EtG seinen Spitzenwert<sup>95,114,120</sup>. Wie Ethanol fällt die EtG-Konzentration nach Erreichen seines Maximalwertes linear ab. Nach dem Abschluss der Ethanolelimination fällt EtG exponentiell ab und nähert sich der Abszisse.

In verschiedenen Trinkversuchen wurden für EtG im Serum vergleichbare Eliminationsraten mit einer Halbwertszeit von etwa 1.7-3.1 h bei moderatem Konsum und 2.5-4.3 h bei schwerem Alkoholkonsum nachgewiesen<sup>112-114</sup>. Høiseth et al. konnten EtG bei maximalen Ethanolkonzentrationen im Serum von 0,74 Promille noch 10-14 h (median 10 Stunden) nach Trinkbeginn im Serum nachweisen<sup>113</sup>. Auch bei Halter et al. wurden in Trinkversuchen mit einer maximalen Blutalkoholkonzentration von 0,5-0,8 Promille noch 10 bis 11 h nach Trinkbeginn EtG und Ethylsulfat (EtS) im Serum nachgewiesen<sup>95</sup>. Bei einer Studie mit schweren Alkoholikern von Høiseth et al. mit einer mittleren Alkoholaufnahme von 172 g Ethanol pro Tag war EtG und EtS noch 7-40 h (median 23 Stunden) nach Alkoholaufnahme im Serum feststellbar<sup>112</sup>.

Basierend auf Daten von 21 Trinkversuchen errechneten Droenner et al. mit einer Computersimulation eine Bildungskonstante mit 0.0006-0.0028 mg/l/h (Md 0.0012 mg/l/h) und Eliminationskonstante von 0.21-0.87 mg/l/h (Md 0.40 mg/l/h) für EtG, um für forensische und klinische Zwecke bei Angaben zur Trinkmenge und zur Trinkzeit einen tatsächlich gemessenen EtG-Wert mit einem theoretisch, mathematisch ermittelten Wert zu vergleichen und Trinkbehauptungen zu überprüfen<sup>94</sup>.

Für die Berechnung der EtG-Konzentration im Serum anhand eines mathematischen Modells schlagen Thieme et al. folgenden Ausdruck vor<sup>116</sup>:

$$\begin{aligned}
 [\text{EtG}] = & (k_3 \times ([\text{EtOH}]_{\text{res}} + [\text{EtOH}]_0) + k_2 \times k_3 / k_4) / k_4 - k_2 \times k_3 / k_4 \times t \\
 & + k_3 \times [\text{EtOH}]_0 / (k_1 - k_4) \times \exp(-k_1 t) + ([\text{EtG}]_{\text{res}} - (k_3 \times ([\text{EtOH}]_{\text{res}} + [\text{EtOH}]_0) \\
 & + k_2 \times k_3 / k_4) / k_4 - k_3 \times [\text{EtOH}]_0 / (k_1 - k_4)) \times \exp(-k_4 t)
 \end{aligned}$$

[EtG]	Blut-EtG-Konzentration
[EtG] <sub>res</sub>	Rest-EtG zu Trinkbeginn
[EtOH] <sub>0</sub>	Trinkmenge
[EtOH] <sub>res</sub>	Restalkohol zu Trinkbeginn
t	Trinkzeit
k <sub>1</sub>	Invasionskonstante von Ethanol, etwa 10h <sup>-1</sup>
k <sub>2</sub>	Eliminationskonstante von Ethanol, etwa 0.16 mg/g/h
k <sub>3</sub>	Invasionskonstante EtG, etwa 570 mg/l/h
k <sub>4</sub>	Eliminationskonstante EtG, etwa 0.18h <sup>-1</sup>

In Trinkversuchen mit moderatem Alkoholkonsum (mit 0.1 bis 0.8 g Ethanol pro kg Körpergewicht) ließen sich EtG und EtS 24 bis 48 h im Urin nachweisen, wobei EtG etwa 1 h nach Konsum erstmals nachweisbar war und etwa nach 5.5 h seinen maximalen Konzentrationswert erreichte<sup>95,96,113,148-150</sup>.

Bei höheren Konsummengen (u.a. bei schweren Alkoholikern) konnte EtG in Trinkversuchen mehr als 90 h im Urin nach Konsum nachgewiesen werden<sup>151-154</sup>. Die Bestimmung von EtG im Urin eignet sich etwa zur Prüfung/ Wiederlegung von Abstinenzbehauptungen im Rahmen einer Alkoholentwöhnungstherapie, um die Frage eines kürzlich stattgefundenen Alkoholkonsums zu beantworten<sup>91</sup> (siehe 1.3.4 *Einsatzbereiche*).

#### 1.3.4 Einsatzbereiche

Es besteht keine direkte Korrelation zwischen Ethanolmenge und EtG-Konzentrationen in Serum und Urin, wonach keine Pauschalaussagen über den Konsum einer spezifisch hohen Ethanolmenge gemacht werden können. Es sind mehrere, zeitliche

Konstellationen bzw. verschiedene Trinkmengen möglich, welche nach einer gewissen Zeit zu der gleichen EtG-Konzentration führen können. So kann eine auf einmal getrunkene, größere Menge an Alkohol nach einer gewissen Zeit  $t$  die gleiche EtG-Konzentration nach sich ziehen, wie ein Alkoholtrunk kleinerer Mengen über eine längere Zeit hinweg<sup>114,116,155</sup>. Die Bestimmung einer EtG-Konzentration eignet sich somit weniger zur Rückrechnung genauer Trinkmengen oder eines genauen Zeitpunktes, kann aber mit bestehenden mathematischen Modellen und Kenntnissen zur Kinetik von EtG zur Widerlegung oder Validierung eines angegebenen Konsums oder von Abstinenzbehauptungen dienen.

Dies zeigte sich u.a. in nachfolgenden Studien:

Bei Kip et al. fanden sich positive EtG-Konzentrationen im Urin bei 38,5% der Patienten in einer Notaufnahme, welche eine einjährige Alkoholabstinenz angaben.

Auch bei Neumann et al. wurden bei 38% von 81 Patienten in der Notaufnahme positive EtG-Werte in Urin und Plasma gemessen, wobei diese negativ bzw. mit nur sehr niedrigen Konzentrationen auf Ethanol in Urin getestet wurden<sup>115,156</sup>.

Auch in Alkoholentzugsprogrammen kann die Bestimmung von EtG wesentlich zur besseren Überprüfung einer Abstinenz beitragen. Junghanns et al. zeigten bei 28% von Patienten, welche 12 Wochen nach einem stattgefundenen Alkoholentzug aus der stationären Behandlung entlassen wurden, positive EtG- und EtS-Konzentrationen im Urin, obwohl diese einen Alkoholgenuss verneinten<sup>157</sup>.

Erim et al. zeigten in Urinproben bei 9 von 18 Lebertransplantationskandidaten, welche einen Alkoholgenuss verneinten, positive EtG-Befunde<sup>158</sup>. Webzell et al. konnten bei 20% von 109 Patienten mit Alkohollebererkrankung einen neuerlichen Ethanolabusus über EtG im Urin nachweisen, obwohl nur 4% dieser Patienten einen erneuten Alkoholabusus von sich aus anführten<sup>159</sup>. Bei Forderung einer absoluten Alkoholabstinenz, unter anderem vor geplanten Organtransplantationen, dient die Messung von EtG zur Überprüfung eines suspeziierten Alkoholkonsums. Gemäß den aktuellen Richtlinien der deutschen Bundesärztekammer wird daher in der Transplantationsmedizin für die Wartelistenführung eine standardmäßige Analyse von EtG im Urin oder auch in Haaren gefordert<sup>160</sup>.

Eine Bestimmung von EtG in Urin bzw. Haaren wurde zudem in die Beurteilungskriterien der deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin und deutschen Gesellschaft für Verkehrspsychologie aufgenommen.

## 1.4 Ethylsulfat

Über Konjugation von 3'-Phosphoadenosin-5'-Phosphosulfat (aktiviertes Sulfat) an Ethanol (< 0,1% der aufgenommenen Menge von Ethanol) wird der Phase-II-Metabolit Ethylsulfat (EtS) gebildet<sup>138</sup>. Diese Konjugation wird von Phenol-Sulfotransferasen (PST/ SULT), von denen es zwei Subgruppen gibt, in der Leber katalysiert<sup>103,107</sup>.

EtS wird als hydrophiles Molekül wie auch EtG über die Niere ausgeschieden. EtS kann bisher in Urin und Serum nachgewiesen werden, wobei EtS wie EtG noch nachweisbar ist, wenn Ethanol bereits abgebaut ist. EtS wird wie EtG mittels LC-MS/MS gemessen. Eine immunochemische Untersuchungsmethode wurde bisher noch nicht entwickelt.

Zwar sind die Kinetik und das Zeitfenster einer Nachweisbarkeit von EtS der von EtG sehr ähnlich, eine gemeinsame Bestimmung von EtG und EtS steigert aber deren Sensitivität und kann die Aussagekraft eines der beiden Marker stützen, da beide Marker durch unterschiedliche enzymatische Wege gebildet werden und miteinander signifikant korrelieren<sup>161</sup>. In einer Studie von Helander et al. wurden Urinproben miteinander verglichen und eine lineare Korrelation beider Marker festgestellt. Auch gab es mehrere Proben, in denen nur EtG, andere in denen nur EtS positiv war<sup>150</sup>. In anderen Studien gab es mehrere Fälle mit EtG-negativen Proben, bei denen EtS nachweisbar war<sup>161,162</sup>.

In postmortalem Gewebe ist die Bestimmung von EtS aufgrund seiner Stabilität gegenüber hydrolysierenden Bakterienstämmen einer EtG-Messung überlegen (siehe *1.3.2 Charakteristik*)<sup>141</sup>. Ein Abbau von EtS konnte nur bei hohen Bakteriendichten beobachtet werden<sup>163</sup>. In anderen Versuchen wurde in Urinproben mit Bakterienstämmen im Gegensatz zu EtG sogar überhaupt kein Abbau von EtS beobachtet<sup>135,140,142,151</sup>.

Positive Ergebnisse sind so wie bei EtG und Ethanol demnach auch bei Aufnahme kleinster Mengen von Alkohol, z.B. aus Lebensmitteln, vorstellbar.

Unter Verwendung eines Modells zur Errechnung der Kinetik von EtG erstellten Schmitt et al. in einem Trinkversuch mit 12 ProbandInnen erfolgreich ein Modell zur Kinetik von EtS. Bei Alkoholkonzentrationen von etwa 0.35-0,69 Promille wurden Bildungskonstanten von 0.003 – 0.008 mg/L/h und Eliminationsraten von 0.395 – 0.823 mg/l/h beschrieben<sup>164</sup>.

Bei einem Trinkexperiment von Halter et al. mit moderaten Alkoholmengen erreichte EtS seinen Serum-Spitzenwert etwa 2.5-3.5 h nach Trinkbeginn (bei EtG nach 3.1-4.9

h), etwa 0.7-1.7 h, nachdem Ethanol seinen Maximalwert erreicht hatte (bei EtG nach 1.4-3.2 h) und war bis zu 12.6 h nach Trinkstart im Blut nachweisbar (bei EtG 14.4 h). Sowohl im Serum als auch im Urin erreichte EtS schneller seine Maximalwerte als EtG, die gemessenen Konzentrationen von EtS waren insgesamt bei allen ProbandInnen niedriger als die von EtG.<sup>95</sup>

Auch bei Høiseth et al. wurden bei ProbandInnen mit hohem Alkoholkonsum jeweils niedrigere Serumkonzentrationen für EtS im Vergleich zu EtG gemessen. Die mediane Halbwertszeit beträgt 3.6 h (2.7-5.4 h) für EtS (2.6-4.3 h für EtG, bzw. 3.3 h im Median)<sup>112</sup>.

Bei einem Trinkversuch von Lostia et al. wurden bei zwei Kollektiven (mit jeweils 40 bzw. 80 g Ethanol ingestion) ähnliche Ergebnisse beobachtet. Das Zeitfenster von EtS im Serum und Urin verglichen mit dem von EtG war auch hier etwa 1-2 h verschoben. Die maximalen Konzentrationen von EtS in Serum und Urin waren ebenfalls unter denen von EtG. Bei beiden Trinkgruppen gibt es weder bezüglich der maximal erreichten Konzentrationen von EtS und EtG noch bezogen auf das Zeitprofil geschlechtsspezifische Unterschiede<sup>111</sup>.

In anderen Studien wird EtS zwischen 4 und 8 h nach vollständiger Ethanolelimination im Blut nachgewiesen; das Zeitfenster der Nachweisbarkeit im Urin umfasst etwa 30 bis 36 Stunden<sup>95,161,165</sup>.

## 2 Zielsetzung

Das Studienziel der vorliegenden Arbeit war, gemäß der Forschungsfrage zur Kinetik von Ethylglucuronid bei mehrtägiger Alkoholaufnahme die Anflutung sowie Elimination von Ethanol und seines Metaboliten Ethylglucuronid zu untersuchen. Die vorliegende Studie soll einen Beitrag zur Erforschung eines mathematischen Berechnungsmodelles zur EtG-Bildung und Elimination erbringen, um z.B. bei Trinkbehauptungen oder stattgefundenem Nachtrunk nach Tatbeständen einen länger zurückliegenden Alkoholkonsum mit zusätzlichen Erklärungsmodellen bestmöglich nachbilden zu können.

Im Speziellen interessierte, ob und inwiefern bei länger zurückliegendem Alkoholkonsum EtG im Gegensatz zur BAK noch nachweisbar ist, bzw. welchen Einfluss längere Trinkpausen bei mehrtägiger Alkoholaufnahme auf beide Konzentrationen an Folgetagen ausübt (Nachtrunkmodell).

Demnach waren folgende Fragenstellungen von Relevanz:

### 2.1 Hauptfragestellungen

- Modellierung der Ethanol- und EtG-Funktion bei mehrtägigem Trinkversuch anhand eines linearen Regressionsmodelles mit Berechnung der Invasions- und Eliminationskonstanten beider Parameter.
- Untersuchung des Zusammenhangs der Minima und Maxima der BAK- und EtG-Konzentrationskurven: Kann EtG noch nachgewiesen werden, wenn Ethanol bereits abgebaut wurde? Mit welcher zeitlichen Verzögerung zur BAK-Konzentration erreicht EtG seinen Spitzenwert? Wie verändern sich die BAK- und EtG-Konzentrationen bei erneutem Trinkstart nach einer längeren vordefinierten Trinkpause (Nachtrunkmodell)?
- Gibt es einen Zusammenhang der Ethanol- und EtG-Invasionskonstanten bei unterschiedlicher Trinkgeschwindigkeit? Verändert sich die EtG-Invasionskonstante an den drei Versuchstagen oder bleibt sie konstant? Gibt es personenbezogene Einflussgrößen wie BMI, Verteilungskoeffizient oder Geschlecht, welche Unterschiede der EtG-Bildungskonstante zwischen mehreren Individuen induzieren?

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen Ethanol- bzw. EtG-Abbauraten? Zeigt sich eine Vergleichbarkeit der Eliminationsraten bei beiden Geschlechtern?
- Gibt es weitere kinetische Parameter der BAK- und EtG-Funktion, welche miteinander korrelieren?

## **2.2 Nebenfragenstellungen**

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen interindividuellem Verteilungskoeffizient und erforderlichen Trinkmengen, um eine vordefinierte Blutalkoholkonzentration zu erreichen? Inwiefern spielen weitere personenbezogene Faktoren wie Geschlecht und BMI eine Rolle im mehrtägigen Trinkversuch?
- Gibt es einen geschlechterspezifischen Unterschied in der Eliminationsgeschwindigkeit von Ethanol?



### **3 Materialien und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign und ProbandInnenkollektiv**

Die Studie wurde am Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) in München durchgeführt und aus Fördermitteln des Vereins zur Förderung von Wissenschaft und Forschung an der Medizinischen Fakultät der LMU München e.V. finanziert. Es handelt sich um eine monozentrische, nicht-kontrollierte Studie mit einem experimentellen Faktor (Trinkverhalten), welche nach der derzeit aktuellen und gültigen Fassung der Deklaration von Helsinki ausgeführt wurde. Die Untersuchungsdurchführung wurde anhand des Studienprotokolls von der Ethikkommission der LMU München vorab geprüft und am 06.10.2015 positiv beschieden.

Alle erhobenen Daten wurden streng vertraulich behandelt, sekundär anonymisiert und mit einer ProbandInnennummer versehen, wodurch ein Rückschluss auf den Namen der ProbandInnen für Dritte nicht mehr möglich ist. Insbesondere können aus den Ergebnissen keine Rückschlüsse auf individuelle Teilnehmende gezogen werden, womit die aktuellen Datenschutzrichtlinien als erfüllt zu bezeichnen sind. Die sensiblen Daten sind auf Endgeräten mit Zugangssicherung gespeichert, sodass nur autorisierte Personen Zugang zu den ProbandInnenprotokollen haben.

Die Versuche wurden an freiwilligen, gesunden, erwachsenen, aufklärungs- und zustimmungsfähigen sowie alkoholerfahrenen ProbandInnen, unter ärztlicher Aufsicht und unter Betreuung durch anwesende Doktoranden der Studie (Nicole Richter, Markus Fichtl, Paul Luger) an drei aufeinanderfolgenden Versuchstagen durchgeführt. Um einen geschlechterspezifischen Unterschied darzustellen, wurden 10 männliche und 10 weibliche ProbandInnen ausgewählt. Die ProbandInnen wurden aus dem Freundeskreis bzw. Arbeitsumfeld der DoktorandInnen wie auch der Betreuer angeworben und anschließend durch Frau Dr. Stadler über den Studienablauf mündlich aufgeklärt. Die Rekrutierung der Teilnehmenden führte demnach zu einer sog. anfallenden Stichprobe<sup>166</sup>.

Zusätzlich erhielt jede ProbandIn eine schriftliche ProbandInneninformation, welche v.a. über die Fragestellung der Studie und den Studienablauf informieren sollte. Die ProbandInnen mussten vor Versuchsbeginn über eine Einwilligungserklärung ihr Einverständnis geben. Für die Teilnahme und dem damit einhergehenden vergleichsweise hohen zeitlichen Aufwand wie auch das von den ProbandInnen geforderte Maß

an Disziplin wurden die TeilnehmerInnen nach Abschluss der drei Versuchstage mit einer Aufwandsentschädigung von insgesamt 300 € honoriert.

### **3.2 Einschlusskriterien zur Studienteilnahme**

Vor Einschluss in die Studie wurde jede ProbandIn orientierend klinisch untersucht und ein Anamnesegespräch durchgeführt. Neben der Gewichtsmessung und der Körpergröße sowie dem exakten Lebensalter zum Erhebungszeitpunkt unter Berücksichtigung des Geburtsdatums wurden Vorerkrankungen, Allergien und Unverträglichkeiten sowie Gewohnheiten zu Alkoholeinnahme bzw. Nikotinkonsum oder anderen Suchtmitteln erhoben. Demnach gab Probandin 10W einen durchschnittlichen Konsum von 2-3 Zigaretten täglich seit zwei Jahren an, die Probandinnen 5W und 20W gaben ein gelegentliches bzw. seltenes Rauchverhalten an. Alle übrigen ProbandInnen führten keinen Nikotinkonsum an. Als Ausschlusskriterien zur Studienteilnahme wurden eine bekannte, bestehende Schwangerschaft, Lebensalter < 18 Jahre, Komorbiditäten sowie ein vorliegender Alkoholabusus festgelegt. Alkoholtrinkgewohnheiten, welche durch einen höheren durchschnittlichen Konsum auf eine mögliche Alkoholgewöhnung oder eine Abhängigkeit hinweisen, hätten einen Ausschluss aus der Studie zur Folge gehabt. Sämtliche ProbandInnen gaben an, gering bis durchschnittlich Alkohol zu konsumieren. Im Anamnesegespräch mit den potentiellen Teilnehmenden wurde zudem besonders auf jene Medikamente geachtet, welche die Magenentleerung und damit die Resorptionskinetik des aufzunehmenden Ethanol beeinflussen könnten (siehe 1.1.2.1 Ethanolresorption). Geachtet wurde auch auf blutverdünnende Medikamente, deren Einnahme aufgrund wiederholter, regelmäßiger Blutabnahmen im Rahmen der drei Versuchstage nicht vertretbar gewesen wäre.

Die ProbandInnen wurden vorab ebenfalls orientierend laborchemisch untersucht (u.a. kleines Blutbild, Leberfunktionsparameter, Blutgerinnungsparameter). Bei Probandin 17W ergab das abgenommene Labor anfangs einen geringen Hb-Wert, woraufhin diese nach einer Woche erneut laborchemisch untersucht und eine Anämie ausgeschlossen werden konnte. Ein Hinweis auf relevante Erkrankungen des Herz-Kreislauf- oder des gastrointestinalen Systems (v.a. erhöhte Leberparameter als Hinweis auf einen möglichen Leberschaden), Blutgerinnungsstörungen, mögliche Stoffwechselerkrankungen wie z.B. Diabetes mellitus wie auch ein Hinweis auf

gesundheitliche Einschränkungen, bei welchen ein Alkoholkonsum nicht vertretbar gewesen wäre, hätten einen Ausschluss der ProbandInnen von der Studie nach sich gezogen.

Bei allen ProbandInnen waren die Laborparameter, das Anamnesegespräch und die körperliche Untersuchung unauffällig und demnach konnte die nötige Eignung für die Studienteilnahme befürwortet werden.

Die ProbandInnen wurden im Rahmen des Aufklärungsgespräches darauf hingewiesen, dass für jede Blutprobe ca. 5 ml Blut abgenommen wird, was an den drei Versuchstagen mit 72 Blutproben eine Blutmenge von etwa 360 ml ergibt. Die insgesamt entnommene Blutmenge war damit geringer als die einer Blutspende (mit ca. 500 ml Spenderblut). Eine Einschränkung der Leistungsfähigkeit war nicht zu erwarten, jede ProbandIn wurde dennoch darüber aufgeklärt, sich an den folgenden Tagen sicherheitshalber körperlich zu schonen. Da sich das Blutplasma wie auch die Blutbestandteile rasch nachbilden, sollte zwei Wochen vor und zwei Wochen nach den drei Versuchstagen kein Blut gespendet werden. Da die Bildung von Erythrozyten bis zu zwei Monate dauern kann, wurde für eine Spende dieser längere Zeiträume empfohlen. Die ProbandInnen wurden zudem darüber informiert, dass an den drei Versuchstagen bis nach Beendigung der letzten Blutabnahme kein Alkohol außerhalb der Trinkversuche konsumiert werden darf. Es sollte darauf geachtet werden, an den Versuchstagen und zwei Tage vorher auf einen mäßigen Konsum von Nahrungsmitteln (u.a. Obstsäfte, Früchte oder z.B. Sauerkraut) zu achten, welche einen potentiellen Einfluss auf die festzustellenden EtG-Spiegel haben könnten. Die ProbandInnen mussten zustimmen, mindestens 48 Stunden vor Studien-/ Trinkbeginn alkoholabstinent zu sein. Über eine Blutabnahme (Nullprobe) am Anfang eines jeden Versuchstages wurde sichergestellt, dass zu Versuchsbeginn weder Ethanol noch EtG im Blut nachweisbar waren. Es wurde darauf hingewiesen, an den Versuchstagen kein Kraftfahrzeug zu führen.

### **3.3 Trinkversuche**

#### **3.3.1 Versuchsaufbau**

Die Trinkversuche fanden im Zeitraum von 08.06.2015 bis 05.03.2016 im Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität(LMU) in München statt. An je drei aufeinanderfolgenden Versuchstagen nahmen zwischen ein und maximal zwei ProbandInnen unter Betreuung zweier DoktorandInnen und ärztlicher Aufsicht teil. Das

Setting war für alle Teilnehmenden vergleichbar, insbesondere war die räumliche Anordnung identisch und die Behandlung der ProbandInnen erfolgte möglichst gleichartig. Aufgrund der langen Versuchsdauer der Trinkversuche, wurde an allen Tagen früh am Morgen, meist gegen 7:00 Uhr begonnen.

Vorab wurde darauf geachtet, die interindividuellen Unterschiede bezüglich der Alkoholresorption, abhängig von der Magenfüllung, so minimal wie möglich zu halten. Die ProbandInnen hatten an allen Versuchstagen nüchtern zu erscheinen. Als genormtes, einheitliches Frühstück wurden zwei belegte Semmeln (wahlweise mit Wurst oder Käse) und ein heißes Beigetränk (Kaffee oder Tee) bereitgestellt. Einer der ProbandInnen (13M) nahm nur vegane Kost zu sich und bekam dementsprechend ein angepasstes Frühstück. Während der Versuchstage durften die ProbandInnen zwischen unterschiedlichen Softgetränken oder Wasser wählen. Es wurde darauf geachtet, nicht zu schnell bzw. keine zu große Menge an Beigetränken zu sich zu nehmen, um Einflüsse auf die Alkoholresorption zu minimieren. Die Mittagsmahlzeit wurde ins Institut bestellt. Eine sonstige Nahrungsaufnahme oder ein Zigarettenkonsum wurde den ProbandInnen zwischen den Blutabnahmen und Atemalkoholmessungen freigestellt. Außer dem Verzehr von kleineren Snacks wurde eine zusätzliche größere Nahrungsaufnahme außerhalb des standardisierten Frühstücks und der Mittagsmahlzeit von keiner ProbandIn in Anspruch genommen.

Die Alkoholisierung wurde mittels einer höherprozentigen, praktisch begleitstofffreien Spirituose erreicht. Für die Trinkversuche wurde bei allen ProbandInnen Vodka der Marke Parliament® mit 40 Vol.% Ethanolgehalt (Borco-Marken-Import Matthiesen GmbH & Co. KG) verwendet. Die zu konsumierende Alkoholmenge wurde jeweils für die einzelnen Versuchstage nach üblicher Trinkmengenberechnung individuell berechnet und vorbereitet. Für die Berechnung wurden das Körpergewicht, das Geschlecht (Verteilungsfaktor), das mit 10% abgeschätzte Resorptionsdefizit von Vodka, sowie die an den drei Versuchstagen variierende Trinkzeit miteinbezogen.

Die einzelnen Blutabnahmen wurden durch die DoktorandInnen durchgeführt. Am Anfang eines Versuchstages wurde hierfür am Unterarm eine periphere Venenverweilkanüle gelegt, über welche die anschließenden Blutabnahmen vorgenommen wurden. Nach jeder Blutabnahme wurde die Venenverweilkanüle mit einem Mandrin sachgemäß und sauber verschlossen.

### 3.3.2 Versuchsablauf

An allen drei Versuchstagen wurde den ProbandInnen zuerst am Morgen das standardisierte Frühstück angeboten. Anschließend wurde über die periphere Venenverweilkanüle eine Blutprobe abgenommen und eine Atemalkoholmessung durchgeführt (Nullwert) und so eine Alkoholnüchternheit überprüft. Danach wurde mit den Trinkversuchen und dem Trinken des Alkohols begonnen. Die Atemalkoholmessungen wurden in Doppelbestimmung mittels eines Dräger Evidential® 7110 Gerätes<sup>167</sup> durchgeführt.<sup>a</sup>

An allen Versuchstagen wurden die ProbandInnen mit Alkohol auf einen nach Abschluss der Trinkdauer zu erwartenden Wert von 0,9 bis 1,1 Promille belastet. Am ersten Tag betrug die Trinkdauer eine Stunde (mit einer Alkoholbelastung bis etwa 1.0 g Ethanol/kg Körpergewicht), am zweiten Tag zwei Stunden (mit einer Alkoholbelastung bis etwa 1.1 g Ethanol pro kg Körpergewicht), und am dritten Tag drei Stunden (Alkoholbelastung bis etwa 1.2 g Ethanol pro kg Körpergewicht). In diesen Intervallen sollten die ProbandInnen die errechnete Alkoholmenge in kleineren Mengen und in gleichmäßigen Abständen aufgeteilt zu sich nehmen, um eine konstante Resorption und Anflutung des Ethanols bestmöglich darzustellen.

Während der Trinkphase wurden regelmäßige Atemalkoholkontrollmessungen durchgeführt. Es wurde eine Ziel-Atemalkoholkonzentration von 0.55 mg/l (entsprechend einer Blutalkoholkonzentration in einem Bereich von ca. 1,16 Promille) angestrebt. Bei einem absehbaren zu steilen Anstieg der Atemalkoholkonzentration wurde vor Abschluss der Trinkdauer die zuvor errechnete Trinkmenge angepasst. Analog wurde bei einem trägen Anstieg des Atemalkoholwertes und einer zu erwartenden zu niedrigen Blutalkoholkonzentration die Ethanolmenge im Laufe der Trinkphase entsprechend erhöht. Bei fünf ProbandInnen (2M, 6M, 7W, 18M und 19M) wurde aufgrund einer zu hohen Atemalkoholkonzentration am ersten Versuchstag die Trinkmenge an den folgenden Versuchstagen angepasst und reduziert. Bei sieben ProbandInnen (3W, 4M, 12W, 14M, 17W, 18M und 20W) war der AAK-Wert im Laufe eines Versuchstages nicht hoch genug und die Trinkmenge wurde dementsprechend erhöht. Auffallend war Proband 18M, bei welchem am ersten Versuchstag aufgrund

---

<sup>a</sup> Die Ergebnisse der entsprechenden Atemalkoholmessungen werden von der Doktorandin Nicole Richter im Rahmen ihrer Promotionsarbeit diskutiert.

eines zu flachen Atemalkoholanstieges die Trinkmenge an diesem Tag erhöht wurde; am dritten Versuchstag musste diese allerdings aufgrund bereits ausreichend hoher AAK-Werte reduziert werden. Die Zusammenfassung der durchschnittlich aufgenommenen Ethanolmenge an den drei Tagen ist dem Abschnitt 4.1 Stichprobe zu entnehmen.

Zu definierten Zeitpunkten wurde den ProbandInnen Blut abgenommen sowie zeitgleich eine Atemalkoholmessung durchgeführt. An allen Versuchstagen wurde ab Trinkbeginn bis eine Stunde nach Trinkende in einem Abstand von 15 min Blut abgenommen. Danach fand die Blutabnahme alle 30 min bis sechs Stunden nach Trinkende statt. 12 Stunden nach Trinkende wurde eine einzelne, letzte Blutabnahme durchgeführt. Somit ergaben sich für den 1. Tag 20, für den 2. Tag 24 und für den 3. Tag 28 Blutabnahmen (insgesamt 72 je ProbandIn). Dies ergibt eine Dauer von sieben Stunden am 1. Tag, acht Stunden am 2. und neun Stunden am 3. Tag, an welchen die ProbandInnen im Institut durchgehend anwesend waren. Nach Abnahme der vorletzten Blutprobe eines jeweiligen Versuchstages wurde die Venenverweilkanüle entfernt und die ProbandInnen wurden nach Hause entlassen. Die letzte Abnahme eines Versuchstages wurde mit einer Flügelkanüle (Butterfly) von der diensthabenden Ärztin im Institut durchgeführt. In Einzelfällen konnten Blutabnahmen aufgrund einer aufgetretenen Koagulation in der Verweilkanüle nicht vorgenommen, bzw. die definierten Zeitabstände nicht genau eingehalten werden, woraufhin zusätzliche Blutabnahmen zwischen den bereits definierten Zeitabständen vorgenommen wurden. In diesen Fällen musste, um die definierten Zeitabstände bestmöglich einzuhalten, notfalls mit einem Butterfly abgenommen oder eine neue Kanüle gelegt werden, falls diese mit NaCl nicht erfolgreich gespült werden konnte.

Die anfallenden Blutproben wurden laufend abzentrifugiert, zweimal je 1.5 ml des Serumüberstandes einer jeweiligen Probe in zwei Eppendorfgefäße abpipettiert, nummeriert und in einer Tiefkühlkammer des Instituts bei  $-20^{\circ}$  Celsius tiefgekühlt aufbewahrt. Ein Eppendorfgefäß einer Probe diente zur Bestimmung des Blutalkohols sowie der Begleitstoffe<sup>b</sup>. Beide Parameter wurden im Institut für Rechtsmedizin der LMU in München von den DoktorandInnen gemessen und ausgewertet. Ein zweites

---

<sup>b</sup> Die Ergebnisse der Begleitstoffmessungen werden von dem Doktoranden Markus Fichtl im Rahmen seiner Promotionsarbeit diskutiert.

Eppendorfgeläß wurde für entsprechende EtG- und EtS-Messungen an ein externes Labor (siehe 4.4.3 Messung von Ethylglucuronid und Ethylsulfat) versandt.

### 3.4 Instrumente

In diesem Abschnitt erfolgt die Darlegung der für die Erfassung des BAK und EtG erforderlichen Geräte und Maßnahmen.

#### 3.4.1 Blutalkoholmessung

Die zuvor abzentrifugierten, tiefgekühlten Plasmaproben wurden aufgetaut und mittels Vortex-Mischer homogenisiert. Die Proben wurden mittels eines Auto-Dilutors vorbereitet und im Rahmen der Probenvorbereitung mit internem Standard versetzt und in GC-Vials abgefüllt. Jedes Vial wurde mit 100 µl der Probe und 500 µl eines internen Standards (tertiärer Butanol mit 0,008 %) befüllt. Der Autosampler des Messsystems wurde nach jedem Probengeläßchen mit Probenplasma mit einem Geläßchen mit 600µl H<sub>2</sub>O bestückt. In jede Serie wurden Kontrollproben mit Serumstandards (0.5 und 1.1 g/l Serum) integriert. Als Konfidenzbereich für die Kontrollproben wurde wie in den forensischen Richtlinien üblich ein Konfidenzintervall von ± 5% des Zielwertes, beim internen Standard mit 0.5 g/l Serum ein Intervall von 0.441-0.565 g/l, und beim internen Standard mit 1.1 g/l Serum ein Intervall von 1.037-1.161 g/l eingehalten<sup>168</sup>.

Zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration wurde ein Headspace Sampler der Marke PerkinElmer® TurboMatrix™ HS 110<sup>169</sup>, welcher die Proben aufnimmt, und ein Gaschromatograph der Marke PerkinElmer® Clarus® 500 mit Flammenionisationsdetektor<sup>170</sup> verwendet (Headspace gas chromatography with flame ionization detection, HS-GC-FID). Als Software zur Auswertung wurde das Programm TotalChromNavigator von PerkinElmer®<sup>171</sup> herangezogen, das zudem zur Gerätesteuerung dient. Die BAK-Konzentration einer jeden Probe wurde in Doppelbestimmung bestimmt, das arithmetische Mittel gebildet, nach zwei Stellen gerundet und in Promille [‰] Vollblut umgerechnet angegeben. Lag die Spannbreite der Einzelwerte über 10%, so wurde erneut eine Doppelbestimmung der Blutprobe durchgeführt und der Mittelwert der Wiederholungsmessung – sofern er den entsprechenden Anforderungen genügte – anstelle der ersten Messung übernommen. Einige wenige Messwerte waren auch nach einer Zweitbestimmung aufgrund fragwürdiger hoher bzw. niedriger Werte aus den Analysen auszuschließen, obwohl die

gemessenen Einzelwerte in sich schlüssig waren und ohne weiteres keine plausible Erklärung für die offensichtlich falschen Messwerte gefunden werden konnte. Mögliche Fehlerquellen bei der Blutalkoholmessung sind u.a. Pipettierungenauigkeiten, eine Kontamination durch alkoholische Desinfektionsmittel, eine auftretende Hämolyse bei den Blutproben, ein Messfehler bei zu wenig bzw. zu viel internem Standard in einer Probe oder mögliche Verdunstungseffekte, insbesondere bei mehrmaligem Pipettieren (beim Öffnen der Cups) und/oder großem Totvolumen mit auffällig niedrigen Messwerten bei Zweit- bzw. Wiederholungsmessungen bei zu lange geöffneten Eppendorfgefäßen.

#### 3.4.2 Messung von Ethylglucuronid und Ethylsulfat

Für die EtG- und EtS-Bestimmung wurden weitere Eppendorfgefäße mit Plasmaproben in ein externes Labor (*Labor Staber Dresden in Klipphausen*, Deutschland) versendet und mit Unterstützung von Dr. Detlef Thieme (*Institut für Dopinganalytik und Sportbiochemie Dresden* in Kreischa, Deutschland) ausgewertet. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte mit einem ClinMass<sup>®</sup> LC-MS/MS Komplettkit der Firma Recipe<sup>172</sup>. Als interner Standard wurde Ethylglucuronid-D5 und Ethylsulfat-D5 verwendet<sup>172</sup>. Mittels Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) von Agilent<sup>®</sup> Technologies, gekoppelt an eine Flüssigchromatographie-Säule von Zorbax-Eclipse-XDB-C8 (4.6 × 150 mm; Agilent)<sup>173</sup> sowie Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (LC/MS, HPLC-MS) mit AB-SCIEX-Triple-Quad<sup>™</sup> 5500-System<sup>174</sup> wurde in den Proben EtG und EtS bestimmt<sup>172</sup>. Die EtG- und EtS-Konzentrationen jeder Probe wurden in Einfachbestimmung gemessen und in ng/ml angegeben. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde jedoch nur die EtG-Konzentration in den nachfolgenden Auswertungen verwendet.

#### 3.4.3 Messdatenmodellierung

Nach Aufarbeitung der Plasmaproben ergaben sich bei 72 Messzeitpunkten je Proband entsprechend jeweils 72 BAK- und 72 EtG-Analysedaten, welche in der vorliegenden Arbeit diskutiert werden. Die kinetischen Parameter wurden unter der Voraussetzung eines linearen Regressionsmodells aus den gemessenen (experimentell ermittelten) BAK- und EtG-Daten errechnet. Mit Hilfe der oben angeführten Widmark-Formel sowie dem im Kapitel 1.3.3 Pharmakokinetik EtG dargestellten mathematischen



Modell zur Errechnung von EtG wurden zunächst unter Berücksichtigung der zur Verfügung stehenden ProbandInnen Daten, wie z.B. Körpermasse, Trinkmenge bzw. Trinkdauer und Verteilungsfaktor die anhand eines Invasions-/ Eliminationsmodelles zu erwartende BAK- und EtG-Konzentration in Microsoft Excel<sup>®</sup> modelliert. In einem weiteren Schritt wurden diese im mathematischen Modell errechneten Daten den realen, tatsächlich gemessenen Messdaten der 20 ProbandInnen gegenübergestellt. Die Abweichung der beobachteten zu den vorhergesagten Messdaten wurde anhand der Annahme eines linearen Regressionsmodelles als Fehlerquadratsumme (Residuenquadratsumme) erfasst. Unter Berücksichtigung eventueller Messfehler und der Annahme, dass sich der Erwartungswert in einem Bereich um den vorhergesagten Wert befindet, wurde mit Hilfe der Solver-Funktion in Excel<sup>®</sup> die Residuenquadratsumme unter Veränderung der kinetischen Parameter für eine bestmögliche Modellanpassung minimiert. Durch die Minimierung der Fehlerquadratsumme wurden die am wahrscheinlichsten vorliegenden kinetischen Parameter errechnet. Eine detaillierte Darlegung des vorliegenden Modells findet sich im Abschnitt 4.3 Modellanpassung der BAK- und EtG-Funktionen.

Der erste Teilnehmer der Studie, Proband 1M war aufgrund zu vieler fehlender Messwerte aus den nachfolgenden Analysen auszuschließen. Die Fallzahl aller nachfolgenden Analysen lag somit bei n=19 ProbandInnen (9 Männer, 10 Frauen). Bei 72 Messzeitpunkten ergeben sich somit 1368 EtG-Einzelwerte sowie 1368 BAK-Einzelwerte. Zudem war zu berücksichtigen, dass einzelne EtG-Messdaten nicht erhoben werden konnten sowie unplausible Einzelwerte von BAK und EtG aus den Auswertungen auszuschließen waren, wie in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1 Anzahl und Anteilwert fehlender bzw. auszuschließender Einzelwerte (n=1368)

	EtG fehlend	EtG gelöscht	BAK gelöscht
Summe (Anteilwert)	9 (0,66%)	3 (0,22%)	5 (0,37%)

Bei der Beurteilung von Messfehlern ist prinzipiell zwischen zufälligen und systematischen Fehlern zu unterscheiden. Mögliche Fehler bei der Probenverarbeitung (u.a. Pipettierfehler), Probenaufbewahrung und daraus resultierende Verdunstungseffekte führten zu einzelnen nicht plausibel erscheinenden BAK- / EtG-Werten, der in Rohform vorliegende Datensatz wurde daher nach eingehender Prüfung um solche Werte bereinigt („gelöscht“). Dieser Aspekt ist von fehlenden Einzelwerten zu unterscheiden, welche durch technische Probleme zu erklären sind („EtG fehlend“). Bei 9 EtG-Proben

stand aufgrund mehrerer Messwiederholungen mit verschiedenen Messvarianten keine ausreichende Probenmenge mehr zur Verfügung – EtG konnte in diesen Proben daher nicht sicher nachgewiesen werden.

Bei der Invasion sowie Elimination beider Parameter kam es im Bereich der sogenannten Plateauphase zu Schwankungen, welche jedoch als zufällig zu bezeichnen und somit als erwartbar zu interpretieren waren. Die entsprechenden Daten wurden beibehalten.

#### 3.4.4 Statistische Analysen

Die deskriptiv- und inferenzstatistischen Auswertungen wurden mit der Statistik-Software IBM SPSS® 22 (IBM, Armonk, NY USA) sowie mittels Excel® für MAC OSX vorgenommen.

Im Rahmen der schließenden Statistik wurde das Signifikanzniveau mit  $\alpha = 5\%$ , entsprechend der Irrtumswahrscheinlichkeit (Fehler 1. Art), festgelegt, sodass ein Ergebnis mit  $p \leq .05$  als signifikant bezeichnet wird. Zur Interpretation der praktischen Bedeutsamkeit von Ergebnissen wurden standardisierte Effektgrößen gemäß der Klassifikation nach Cohen herangezogen.<sup>175</sup> Für das Effektmaß  $r$  gelten demnach Werte  $\geq .10$  als klein,  $\geq .30$  als mittel und  $\geq .50$  als deutlich.<sup>176</sup> Zur Berechnung wurde der Ausdruck  $r = z / \sqrt{N}$  verwendet.<sup>177</sup>

Im Rahmen der Deskriptivstatistik wurden zur Beschreibung metrischer Parameter die Kennwerte arithmetisches Mittel ( $M$ ), Standardabweichung ( $SD$ ), Minimum (min), Maximum (max), das alternative Lagemaß Median ( $Md$ ) sowie das zugehörige Streuungsmaß Interquartilsabstand (IQR) ermittelt und angeführt. Zur Veranschaulichung der Verteilung metrischer Parameter wurden Histogramme, Balkendiagramme mit Fehlerindikatoren ( $\pm 1SD$ ) und bivariate Streudiagramme sowohl für den Zusammenhang zwischen zwei metrischen Parametern mit linearen Regressionsgeraden inklusive zugehörigen Geradengleichungen, als auch Funktionen für den zeitlichen Verlauf von BAK bzw. EtG erstellt.

Im Rahmen der schließenden Statistik wurden inferenzstatistische Verfahren herangezogen. Zur Prüfung der Unterschiedlichkeit von zumindest ordinalskalierten Daten im Vergleich von zwei unabhängigen Stichproben wurde der parameterfreie U-Test nach Mann und Whitney herangezogen, welcher sich gegenüber einer schiefen Datenverteilung als robust erweist. Dieses Rangsummenverfahren wurde in diesem Fall dem

t-Test für unabhängige Stichproben vorgezogen. Der t-Test erfordert neben der Normalverteilung der zumindest intervallskalierten Messdaten auch die Homogenität der Fehlervarianzen beider Stichproben, die mittels Levene-Test geprüft wird<sup>178</sup>.

Als Verallgemeinerung des t-Tests wurde die zweifaktorielle, gemischte Varianzanalyse (*two-way mixed rmANOVA*) verwendet, welche die Wirkung eines Zwischen-subjektfaktors in Kombination mit einem Innersubjektfaktor auf eine abhängige Variable untersucht. Dieses Verfahren hat den Vorteil, die Interaktion (Wechselwirkung) zwischen den beiden Faktoren auf Signifikanz prüfen zu können. Bei einer signifikanten Interaktion sind die beiden Haupteffekte, z.B. Geschlecht und Zeit, differenziert zu interpretieren.

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen zwei zumindest intervallskalierten, verbundenen Messwertereihen wurde der Koeffizient  $r_{xy}$  der Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson herangezogen, wobei die Linearität des Zusammenhangs vorausgesetzt wird. Der Koeffizient  $r_{xy}$  kann als standardisierte Kovarianz Werte zwischen -1 und +1 annehmen und drückt Richtung und Stärke des Zusammenhangs aus.<sup>178</sup>

Um auch den Einfluss einer moderierenden Stör- bzw. Counfounder-Variable (z.B. BMI) berücksichtigen zu können wurde die partielle Korrelation  $r_{xy.z}$  angewendet. Mit diesem Ansatz wird der Zusammenhang zwischen zwei metrischen Variablen über eine Drittvariable korrigiert und vermeidet die Interpretation von Artefakten<sup>179</sup>. Zudem wurde auch der Unterschied von Korrelationskoeffizienten zwischen zwei unabhängigen Stichproben anhand der *r-to-z* Transformation nach R.A.Fisher<sup>180</sup> bewertet: Hierzu ist in einem ersten Schritt die Transformation der beiden *r*-Koeffizienten anhand des Ausdrucks

$$z' = \frac{1}{2} \cdot \ln \frac{1+r}{1-r}$$

erforderlich und in einem zweiten Schritt wird die Unterschiedlichkeit der beiden Korrelationsstärken mittels

$$z = \frac{z'_1 - z'_2}{\sqrt{\frac{1}{n_1-3} + \frac{1}{n_2-3}}}$$

geprüft<sup>181</sup>.

Zur Prüfung der Vorhersagemöglichkeit der EtG-Konzentration wurde die multiple lineare Regressionsanalyse im Rahmen von Modellprüfungen herangezogen. Diese untersucht den gemeinsamen Erklärungswert mehrerer unabhängiger Variablen auf eine zumindest intervallskalierte Kriteriumsvariable<sup>182</sup>. Durch die Annahme eines linearen Zusammenhangs wird das Kriterium aus den unabhängigen Prädiktorvariablen anhand der standardisierten Regressionskoeffizienten ( $\beta$ ) geschätzt und vorhergesagt. Ziel der multiplen Regressionsanalyse ist, diejenigen Faktoren zu identifizieren, die einen Einfluss auf die Zielvariable ausüben und einen möglichst hohen Erklärungswert bieten.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die blockweise hierarchische Regression herangezogen, welche den Erklärungswert von Prädiktoren sukzessive durch ihre Hinzunahme in Blöcken für das Kriterium prüft.

Voraussetzung für die Berechnung einer Regression ist ein linearer Zusammenhang zwischen den Prädiktoren und der abhängigen Kriteriumsvariable<sup>177</sup>. Diese Regressionsform benötigt zudem Prädiktorvariablen mit Intervallskalen- oder dichotomem Niveau<sup>182</sup>. Eine zentrale Prämisse sind annähernd normalverteilte Residuen der Prädiktorvariablen<sup>177</sup>.

Zudem ist die Unkorreliertheit der Prädiktorvariablen (d.h. keine deutliche Multikollinearität bzw. Redundanz) erforderlich, wobei diese Voraussetzung mit Hilfe der Toleranzkoeffizienten zu prüfen ist. Der Toleranzwert gibt den Prozentwert jener Varianz an, die durch die Variable selbst und nicht durch die anderen unabhängigen Variablen erklärt wird ( $1 - R^2$ ). Eine weitere Voraussetzung ist die Homoskedastizität, womit die Variabilität der Güte der Schätzung annähernd konstant sein soll. Des Weiteren sind unauffällige Autokorrelationen der Residuen erforderlich; dies wird über die Durbin-Watson Statistik (DW) geprüft. Der Koeffizient kann zwischen 0 und 4 liegen, wobei ein Wert von  $\sim 2$  auf keine Autokorrelationen hinweist<sup>177</sup>.

Bei der Beurteilung der Modellprüfung zeigt der erklärte Varianzanteil  $R^2$  die Qualität der Modellgüte an. Im Rahmen der Berechnung der multiplen Regression ist neben dem Bestimmtheitsmaß  $R^2$  auch der korrigierte Wert  $R^2_{\text{adj}}$  anzuführen. Der jeweilige t-Wert und die zugehörige Signifikanzangabe zeigen für jeden einzelnen Prädiktor, ob er einen signifikanten Beitrag zur Vorhersage des Kriteriums liefert.

## 4 Ergebnisse

In diesem Kapitel erfolgt die Darstellung der Analyseergebnisse zur Beantwortung der Fragestellungen. Zunächst erfolgt die Beschreibung der Stichprobeneigenschaften. Anzumerken ist, dass der erste Studienteilnehmer aus den nachfolgenden Auswertungen auszuschließen war, da an den drei Versuchstagen zahlreiche Einzelwerte in den studienrelevanten Variablen nicht erhoben werden konnten.

Die nachfolgenden Analysen beruhen daher auf einem Stichprobenumfang von  $n=19$ .

### 4.1 Stichprobe

Das ProbandInnenkollektiv umfasste 19 Teilnehmende; diese waren mit einer Spannweite von 6,9 Jahren zwischen 21,1 und 28,0 Jahre alt. Das Durchschnittsalter der ProbandInnen lag bei  $23,6 \pm 2,0$  ( $Md = 23,4$ , IQR 21,8; 24,6) Jahren. Die neun männlichen ProbandInnen waren zum Erhebungszeitpunkt durchschnittlich  $23,7 \pm 2,0$  ( $Md = 23,5$ ) Jahre alt, der Altersschnitt der 10 weiblichen ProbandInnen lag bei  $23,4 \pm 2,2$  ( $Md = 23,1$ ) Jahren. Der entsprechende Mann-Whitney-U-Test ergab mit  $p = .604$  keinen signifikanten Unterschied des Lebensalters zwischen männlichen und weiblichen ProbandInnen. Die Abbildung 1 veranschaulicht die Altersverteilung in der Stichprobe.

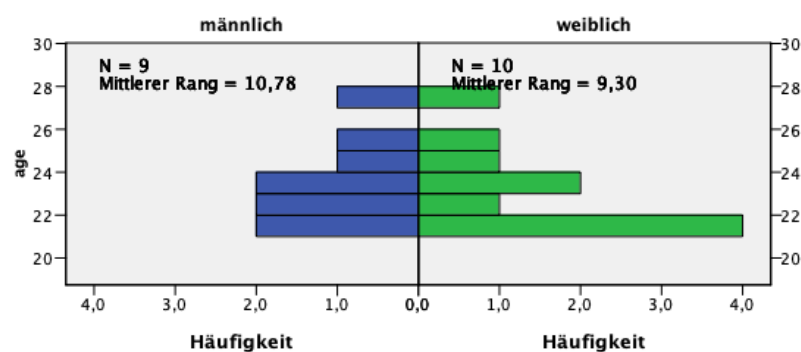


Abbildung 1. Altersstruktur (Jahre) der Stichprobe bzgl. des Geschlechts der ProbandInnen

Tabelle 2 zeigt den Body-Mass-Index der Teilnehmenden unter Berücksichtigung des Geschlechts.

Tabelle 2 Kennwerte des BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) bezüglich des Geschlechts der ProbandInnen

Geschlecht	n	<i>M</i>	<i>SD</i>	min	max	<i>Md</i>	mittlerer Rang
männlich	9	21.90	2.41	19.75	25.83	20.31	9.22
weiblich	10	22.36	2.54	17.96	26.20	22.29	10.70
Gesamt	19	22.14	2.42	17.96	26.20	22.27	

Die ProbandInnen hatten einen durchschnittlichen Body-Mass-Index (BMI) von  $22.14 \pm 2.42 \text{ kg}/\text{m}^2$  bei einer Spannweite von 8.24 zwischen 17.96 und 26.20 ( $Md = 22.27$ , IQR 20.18; 23.27). Der entsprechende Mann-Whitney-U-Test ergab mit  $U = 38.0$  ( $z = -0.572$ ),  $p = .604$  ebenfalls einen nicht signifikanten Unterschied des BMI zwischen männlichen und weiblichen ProbandInnen (siehe Abbildung 2).

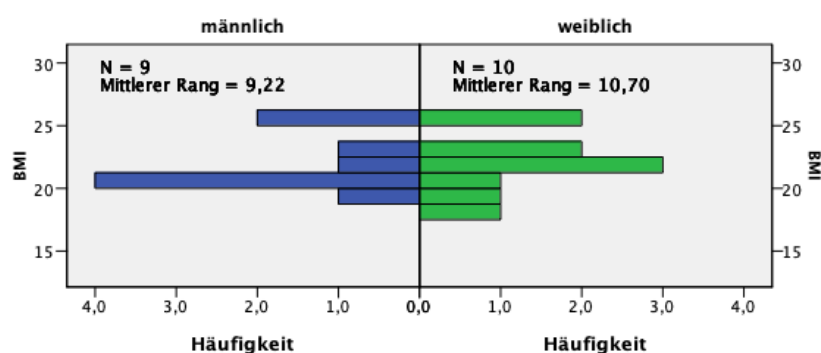


Abbildung 2. Verteilung des BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) bezüglich des Geschlechts der Teilnehmenden

Zur Bestätigung der erforderlichen Steigerung der Trinkmenge in den drei Tagen, da bei längerer Trinkdauer der Abbau von Ethanol gleichzeitig zur Anflutung des ingestierten Alkohols stattfindet, wurde zur Kompensation dieses BAK-Abfalls die Trinkmenge an den drei Tagen kontinuierlich gesteigert.

Tabelle 3 zeigt als Zusammenfassung die hierfür erforderliche Steigerung der Trinkmenge an den Folgetagen, welche mittels zweifaktorieller ( $3 \times 2$ ), gemischter Varianzanalyse (*mixed rmANOVA*) untersucht wurde.

Tabelle 3 Kennwerte  $M \pm SD$  der täglichen Trinkmenge Ethanol in g unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden

	d1	d2	d3
männlich (n=9)	$82.13 \pm 11.76$	$88.53 \pm 11.09$	$95.29 \pm 11.29$
weiblich (n=10)	$57.92 \pm 3.83$	$69.76 \pm 5.60$	$78.08 \pm 6.44$
Gesamt	$69.39 \pm 14.94$	$78.65 \pm 12.77$	$86.23 \pm 12.46$

Da die Prüfgröße für die Interaktion aus Zwischensubjektfaktor Geschlecht und Innersubjektfaktor Zeit mit  $F(1.28, 21.81) = 2.653$ ,  $p = .111$  nicht signifikant ausfiel, konnte die Zunahme der Trinkmenge ohne Einschränkung interpretiert werden: diese zeigte mit  $F(1.28, 21.81) = 54.630$ ,  $p < .001$  eine signifikante Steigerung an. Ebenso war eine signifikant unterschiedliche Trinkmenge im Vergleich der Geschlechter zu verzeichnen,  $F(1.28, 21.81) = 54.630$ ,  $p < .001$ . Die Abbildung 3 veranschaulicht entsprechend die durchschnittlich getrunkene Ethanolmenge an den jeweiligen Versuchstagen unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden.

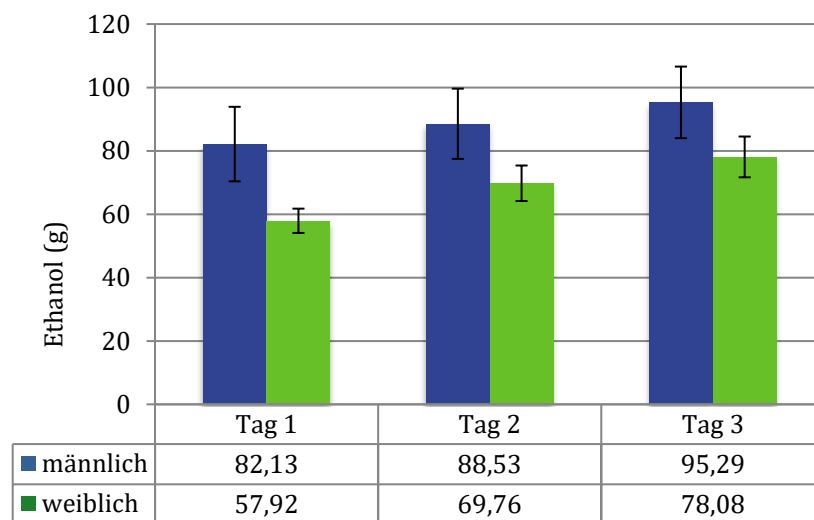


Abbildung 3. Durchschnittlich getrunkene Ethanolmenge in g ( $\pm 1$  SD) unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden

In einem weiteren Schritt wurde die oral ingestierte Ethanolmenge in g pro kg Körpergewicht als Mittelwert und Median über die drei Versuchstage berechnet, was in Tabelle 4 dargestellt ist.

Tabelle 4 Kennwerte der getrunkenen Ethanolmenge (g/kg KG) unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden

Geschlecht	n	$M \pm SD$	min - max	$Md$	IQR
männlich	9	$1.216 \pm .070$	1.067 - 1.285	1.227	1.187; 1.267
weiblich	10	$1.067 \pm .136$	.870 - 1.244	1.067	.947; 1.193
Gesamt	19	$1.138 \pm .131$	.870 - 1.285	1.187	1.058; 1.235

In Abschnitt 4.5 Zusammenhang Trinkmenge und Verteilungskoeffizient wird die aufgenommene Ethanolmenge mit dem Verteilungskoeffizienten in Verbindung gebracht, womit die unterschiedliche Trinkmenge abhängig vom Geschlecht erklärt werden kann.

## 4.2 BAK- und EtG-Charakteristika

In diesem Abschnitt erfolgt zunächst die deskriptivstatistische Darstellung der gemessenen BAK- und EtG-Werte anhand der Minima und Maxima der jeweiligen Tage, dargestellt als Mittelwert der ProbandInnen (n=19).

### 4.2.1 Blutalkoholkonzentration

Am 1. Versuchstag lag eine durchschnittliche, maximale BAK nach 120 min bei  $0,891 \pm 0,164$  Promille bzw. median nach 90 min mit 0,851 (IQR 0,756-0,933) Promille vor. Das individuelle Maximum (BAK-Peak) lag im Zeitintervall zwischen 60 und 210 min nach Trinkbeginn. Bei keiner ProbandIn war am Beginn des 1. Versuchstages eine BAK nachzuweisen. 12 Stunden nach Trinkende war bei allen ProbandInnen eine BAK von 0 Promille festzustellen. Am 2. Versuchstag lag die durchschnittliche, maximale BAK nach 165 min bei  $1,014 \pm 0,143$  Promille bzw. median nach 150 min mit 0,992 (IQR 0,919-1,068) Promille. Das individuelle Maximum (BAK-Peak) lag im Zeitintervall zwischen 105 und 165 min. Bei keiner ProbandIn war zu Beginn des 2. Versuchstages eine BAK nachzuweisen. Auch an diesem Tag war 12 Stunden nach Trinkende bei sämtlichen ProbandInnen eine BAK von 0 Promille festzustellen. Am 3. Versuchstag lag eine durchschnittliche, maximale BAK nach 180 min bei  $1,009 \pm 0,167$  Promille bzw. median nach 180 min mit 1,045 (IQR 0,904-1,169) Promille vor. Das individuelle Maximum (BAK-Peak) lag im Zeitintervall zwischen 165 und 225 min. Bei keiner ProbandIn war zu Beginn des 3. Versuchstages eine BAK nachzuweisen. Ebenso war 12 Stunden nach Trinkende bei allen ProbandInnen ein BAK von 0 Promille zu beobachten.

### 4.2.2 EtG-Konzentration

Am 1. Versuchstag lag die durchschnittliche maximale EtG-Konzentration nach 300 min bei  $1270.3 \pm 359.0$  ng/mL bzw. der Median nach 330 min mit 1250 (IQR 1050 - 1435) ng/mL vor. Das individuelle Maximum (EtG-Peak) lag im Zeitintervall zwischen 210 und 390 min. Anzumerken ist, dass bei acht ProbandInnen am ersten Versuchstag eine EtG-Konzentration zwischen 6.8 und 17.5 ng/mL zur Baseline gemessen wurde. 12 Stunden nach Trinkende war eine durchschnittliche EtG-Konzentration von 247.1 (min 0 - max 663) ng/mL festzustellen, d.h. bei einer einzigen Probandin (17W) war EtG nicht mehr nachweisbar. Am 2. Versuchstag lag die durchschnittliche, maximale



EtG-Konzentration nach 330 min bei  $1494.0 \pm 373.9$  ng/mL bzw. der Median nach 330 min mit 1440 (IQR 1275 - 1725) ng/mL vor. Das individuelle Maximum (EtG-Peak) lag im Zeitintervall zwischen 240 - 480 min. Anzumerken ist, dass bei den ProbandInnen zu Beginn des zweiten Versuchstages (erste Probenentnahme) eine durchschnittliche EtG-Konzentration von 26.8 ng/mL vorlag, wobei bei einer einzigen Probandin (3W) kein EtG nachgewiesen werden konnte. 12 Stunden nach Trinkende war eine durchschnittliche EtG-Konzentration von 253.8 (min 100 - max 496) ng/mL festzustellen. Am 3. Versuchstag lag die durchschnittliche, maximale EtG-Konzentration nach 360 min bei  $1518.7 \pm 311.2$  ng/mL bzw. der Median nach 330 min mit 1470 (IQR 1375 - 1660) vor. Das individuelle Maximum (EtG-Peak) lag im Zeitintervall zwischen 300 und 510 min. Anzumerken ist, dass bei den ProbandInnen zu Beginn des dritten Versuchstages eine durchschnittliche EtG-Konzentration von 32.1 ng/mL vorlag, wobei bei zwei ProbandInnen (2M, 3W) kein EtG nachgewiesen werden konnte. 12 Stunden nach Trinkende war eine durchschnittliche EtG-Konzentration von 210.2 (min 92.3 - max 493) ng/mL festzustellen. Bei der Probandin 9W lag der letzte EtG-Wert nicht vor.

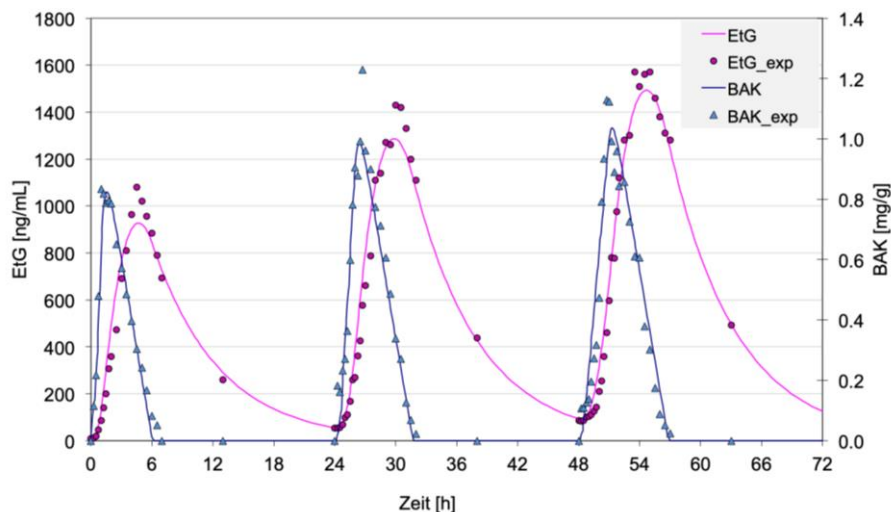
#### 4.2.3 Korrelation von BAK- und EtG-Peak

Die Prüfung des Zusammenhangs der intraindividuellen BAK- und EtG-Spitzenwerte bzgl. ihrer jeweiligen maximalen Konzentration an den einzelnen Versuchstagen erfolgte mittels Rang-Korrelation nach Spearman. Während am 1. Tag mit  $r_s(n=19) = .56$  ( $p = .006$ , einseitig) ein signifikant positiver, deutlicher Zusammenhang zu beobachten war, zeigten sich für den 2. Versuchstag mit  $r_s(n=19) = -.24$  ( $p = .161$ , einseitig) und für den 3. Tag mit  $r_s(n=19) = .01$  ( $p = .491$ , einseitig) keine signifikanten Zusammenhänge.

### 4.3 Modellanpassung der BAK- und EtG-Funktionen

Wie im Abschnitt 3.4.3 *Messdatenmodellierung* bereits erläutert wurden zunächst die kinetischen Parameter k1-k4 von jedem Probanden durch die 72 vorliegenden BAK- und EtG-Daten (BAK bzw. EtG exp) der drei Versuchstage errechnet. Anhand der kinetischen Parameter konnten in einem weiteren Schritt die BAK- und EtG-Funktionen erstellt werden. Die durch das mathematische Modell (siehe 1.3.3 *Pharmakokinetik EtG*) theoretisch zu erwartenden Werte wurden diesen BAK- und

EtG-Funktionen gegenübergestellt. Beide Funktionen und die theoretisch erwartbaren Werte wurden sodann durch die Solver-Funktion in Excel® angenähert, indem die Parameter  $k_1$  und  $k_3$  dermaßen variiert wurden, dass die Fehlerquadratsumme aller drei Versuchstage bestmöglich minimiert wurde. Dadurch wurden die wahrscheinlichste BAK- sowie EtG-Funktion (und somit die am ehesten zu erwartenden kinetischen Parameter  $k_1$  und  $k_3$  sowie der VK) gefittet. Prototypisch veranschaulicht folgende Abbildung für eine Beispielprobandin (5W, weiblich) die BAK- und EtG-Konzentrationen im zeitlichen Verlauf über die drei Versuchstage insgesamt. Die Punkte in der Grafik repräsentieren die im Trinkversuch tatsächlich gemessenen BAK- und EtG-Konzentrationen. Die beiden Funktionen (EtG und BAK) zeigen den durch die Solver-Funktion minimierte Fehlerquadratsumme aller drei Versuchstage wahrscheinlichsten Verlauf der Konzentrationen.



Anm.: EtG\_exp = Ethylglucuronid experimentell (Messdaten), BAK\_exp = Blutalkohol experimentell

Abbildung 4. Verlauf der BAK- und EtG-Konzentration im gesamten Beobachtungszeitraum (Probandin 5W) unter Minimierung der Fehlerquadratsumme aller 3 Versuchstage

Die nachfolgende Abbildung 5 zeigt analog für die Beispielprobandin (5W) den wahrscheinlichsten Verlauf ihrer BAK- und EtG-Konzentrationen aller drei Versuchstage unter Minimierung der Fehlerquadratsumme des jeweiligen Versuchstages. Durch die Verwendung der Solver-Funktion wurden die BAK- und EtG-Funktion sowie die kinetischen Parameter  $k_1$  und  $k_3$  für die einzelnen Tage entsprechend intraindividuell berücksichtigt und erstellt. Als Beispiel angeführt zeigt die erste Grafik in Abbildung 5 die BAK- und EtG-Konzentrationen der Beispielprobandin nach Optimierung der Fehlerquadratsumme des ersten Tages, die zweite Grafik die Konzentrationen nach Optimierung der Fehlerquadratsumme des zweiten Tages usw.

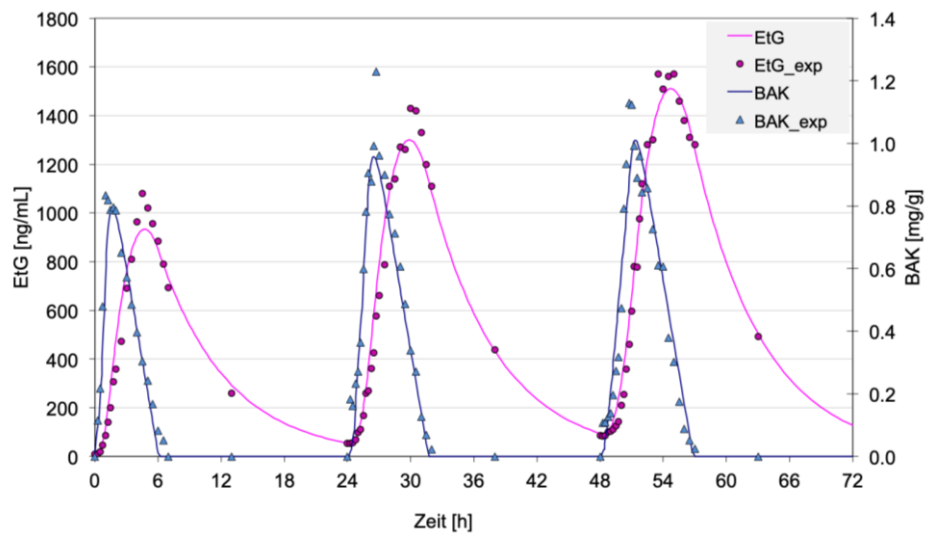
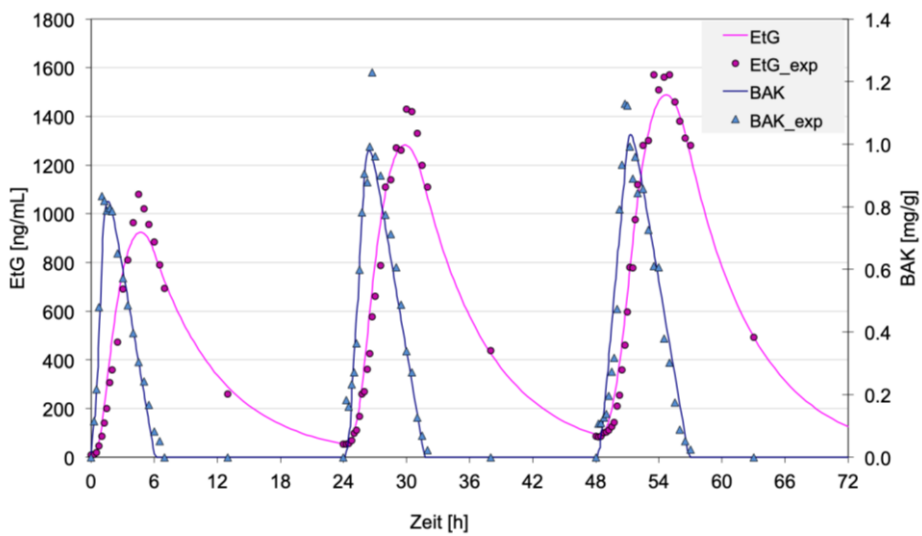
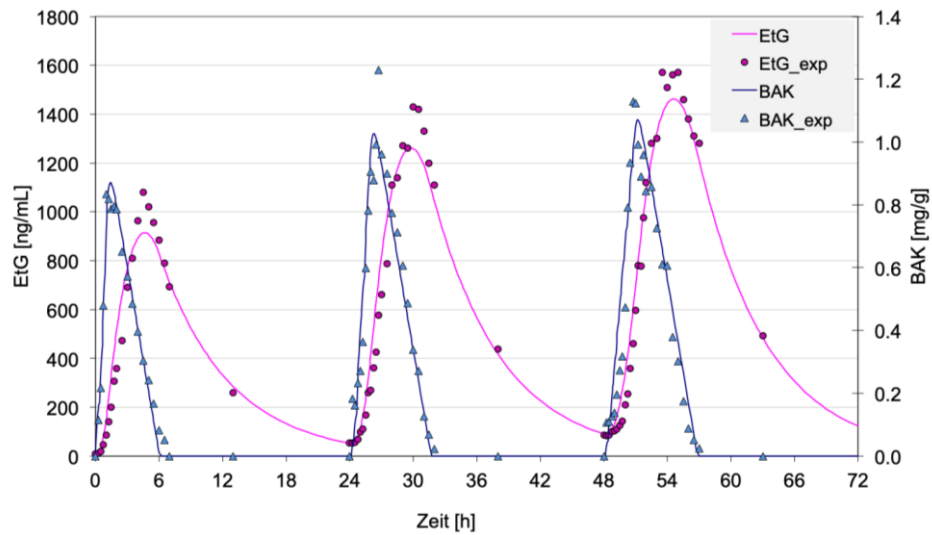


Abbildung 5. Verlauf der BAK- und EtG-Konzentration im gesamten Beobachtungszeitraum (Probandin 5W) unter Minimierung der Fehlerquadratsumme für den Versuchstag 1, 2 und 3 (intraindividuell)

#### 4.4 Pharmakokinetik

In diesem Abschnitt erfolgt die Darlegung der Kinetik von BAK und EtG anhand der Kennwerte  $k_1$  bis  $k_4$ . Eine differenzierte Beschreibung der kinetischen Parameter findet sich im Abschnitt *1.3.3 Pharmakokinetik EtG*. Tabelle 5 zeigt zunächst die entsprechende Zusammenfassung dieser vier Parameter.

Anzumerken ist, dass  $k_1$  als kinetischer Parameter der BAK-Invasion sowohl inter-individuell, als auch zwischen individuellen Trinkereignissen starke Unterschiede aufweist. Zur Vollständigkeit wird die Invasionskonstante für Ethanol ( $k_1$ ) angeführt, jedoch in dieser Arbeit nicht weiter diskutiert.

Die Elimination von Alkohol als Parameter  $k_2$  wurde ebenfalls als Gesamtwert der drei Tage berechnet und angeführt.

Der Parameter  $k_3$  (Invasion von EtG) wurde über die drei Tage als Gesamtwert ermittelt (die interne Konsistenz der drei Einzelwerte gemäß Cronbach's-Alpha lag bei .896, d.h. weist auf eine hohe Reliabilität im Sinne einer Messgenauigkeit und Zuverlässigkeit hin<sup>183</sup>), jedoch ebenso einzeln, d.h. tagesweise, berechnet (siehe *4.4.3 Messdatenmodellierung*), um ggf. eine statistisch relevante Unterschiedlichkeit zwischen den drei Versuchstagen belegen zu können. Die Elimination von EtG als Parameter  $k_4$  wird ebenfalls zusammengefasst über die gesamte Erhebungszeit beschrieben.

Tabelle 5 Charakteristika der BAK und EtG-Kinetik  $k_1$ - $k_4$  ( $n=19$ )

Kinetik	$M \pm SD$	min - max	$Md$	IQR
$k_1$	$3.268 \pm 1.136$	1.91 - 5.82	3.176	2.460; 3.586
$k_2$	$.173 \pm .024$	.13 - .21	.171	.156; .1939
$k_3$ gesamt	$604.5 \pm 124.2$	437.7 - 916.6	561.7	527.8; 683.6
$k_3$ d1	$603.5 \pm 141.2$	407.1 - 947.9	571.1	508.9; 673.1
$k_3$ d2	$623.0 \pm 144.7$	439.0 – 1008.9	580.5	532.5; 685.5
$k_3$ d3	$597.6 \pm 117.1$	425.6 – 848.8	573.3	516.9; 667.4
$k_4$	$.211 \pm .029$	.15 - .26	.216	.191; .230

Anm.:  $k_1$  = Invasion von BAK (Promille/h);  $k_2$  = Elimination von BAK (Promille/h);  $k_3$  = Invasion von EtG ([ng/mL]/[mg/g]\*h<sup>-1</sup>);  $k_3$  d1- d3 tageweise Darstellung;  $k_4$  = Elimination EtG ([ng/mL]/[mg/g]\*h<sup>-1</sup>)

Die Untersuchung der Unterschiedlichkeit der BAK-Elimination ( $k_2$ ; gemittelt aus den drei Tagen) bezüglich des Geschlechts erfolgte aufgrund der Verteilung der Messwerte mittels U-Test für unabhängige Stichproben.

Das signifikante Ergebnis mit  $z = -3.348$ ,  $p < .001$  zeigte, dass Frauen ( $M_{k2} = .190 \pm .017$ ;  $Md_{k2} = .194$ ) eine höhere Eliminationskonstante im Vergleich mit Männern ( $M_{k2} = .153 \pm .014$ ;  $Md_{k2} = .154$ ) mit einem deutlichen Effekt ( $r = .77$ ) aufwiesen.

Die Prüfung der Veränderung von  $k3$  über die drei Versuchstage erfolgte mittels zweifaktorieller ( $3 \times 2$ ) gemischter Varianzanalyse (*two-way, mixed rmANOVA*) mit dem Innersubjektfaktor Zeit (drei Versuchstage) und dem Zwischensubjektfaktor Geschlecht. Die Prüfgröße für die Interaktion aus Zeit x Geschlecht (die Sphärizität der Messwerte, geprüft mittels Mauchly-Test, fiel nicht signifikant [ $p = .170$ ] aus, womit ein homogenes Messwertemuster angenommen werden konnte; ebenso konnte die Homogenität der Fehlervarianzen, geprüft mittels Levene-Test aufgrund der nicht signifikanten Ergebnisse [ $p's \geq .379$ ] belegt werden) zeigte mit  $F(2, 34) = 1.682$ ,  $p = .201$  ein nicht signifikantes Ergebnis, womit die beiden Haupteffekte ohne Einschränkung interpretiert werden konnten. Demnach war keine signifikante Veränderung für  $k3$  über die drei Tage zu beobachten,  $F(2, 34) = 0.754$ ,  $p = .478$ ; ebenso konnte unter Berücksichtigung des Geschlechts kein signifikanter Unterschied von  $k3$  zwischen weiblichen und männlichen Teilnehmenden verzeichnet werden,  $F(1, 17) = 0.072$ ,  $p = .792$ .

Die Abbildung 6 veranschaulicht die Veränderung des kinetischen Parameters  $k3$  im Zeitverlauf unter Berücksichtigung des Geschlechts.

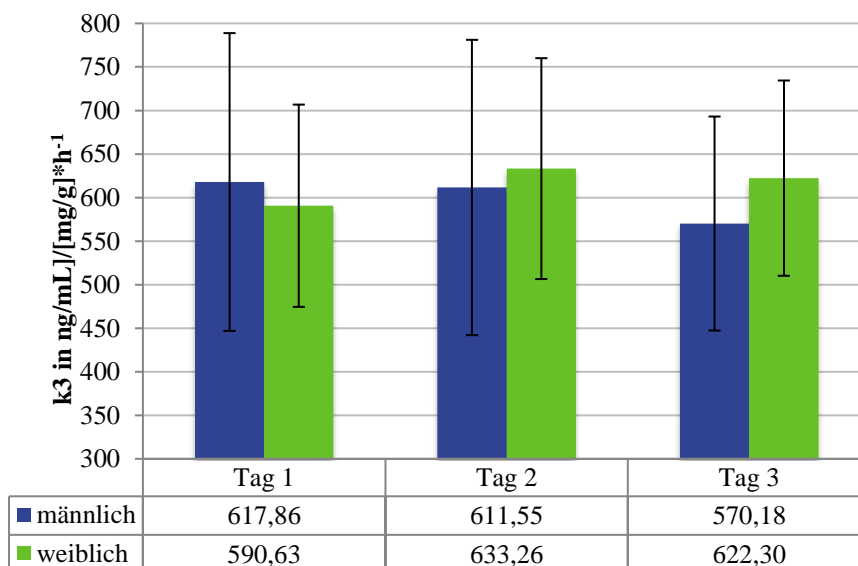


Abbildung 6. Mittleres Ausmaß ( $\pm 1SD$ ) der Invasion von EtG ( $k3$ ) an den drei Tagen bezüglich des Geschlechts der Teilnehmenden

Die Prüfung der Unterschiedlichkeit der EtG-Elimination ( $k_4$ ; gemittelt aus den drei Tagen) bezüglich des Geschlechts erfolgte mittels t-Test für unabhängige Stichproben. Die Homogenität der Fehlervarianzen im Levene-Test konnte angenommen werden [ $p = .159$ ]. Das nicht signifikante Ergebnis mit  $t(17) = 0.131$ ,  $p = .897$  zeigte eine Vergleichbarkeit der EtG-Elimination von Männern ( $M_{k_4} = .212 \pm .023$ ) und Frauen ( $M_{k_4} = .210 \pm .035$ ).

#### 4.4.1 Zusammenhänge der Ethanol- und EtG-Invasionskonstanten

Die Prüfung des Zusammenhangs zwischen der errechneten Geschwindigkeit der Ethanolanflutung  $k_1$  und der Bildungskonstante von Ethylglucuronid  $k_3$  zu den jeweiligen Versuchstagen ergab anhand des Koeffizienten der Produkt-Moment-Korrelation  $r_{xy}(n=19) = -.20$  (d1),  $-.06$  (d2),  $+.05$  (d3). Die nicht signifikanten Ergebnisse [ $p$ 's  $\geq .405$ , zweiseitig] weisen darauf hin, dass die Anflutung von Ethanol und Bildung von EtG voneinander weitgehend unabhängig verlaufen. Die Korrelation zwischen  $k_1$  und dem über die Tage gemittelten  $k_3$  Gesamtwert zeigte ebenso mit  $r_{xy}(n=19) = -.02$ ,  $p = .947$  (zweiseitig) einen nicht signifikanten Zusammenhang, wie auch die Abbildung 7 veranschaulicht.

Die Annahme, dass die Bildungskonstante im Rahmen der Anflutung von Ethanol mit jener von EtG in einem positiven Zusammenhang steht, ist demnach zurückzuweisen.

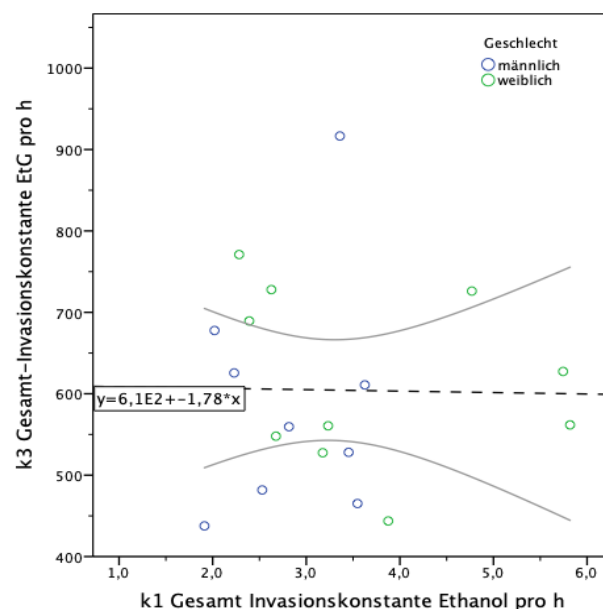


Abbildung 7. Bivariates Streudiagramm: Zusammenhang zwischen  $k_1$  und  $k_3$  unter Berücksichtigung des Geschlechts der ProbandInnen mit linearer Regressionsfunktion (95% KI)

#### 4.4.2 k3-Modellprüfungen

Um auch den möglichen Störeinfluss von personenbezogenen Eigenschaften, wie Geschlecht (dichotom, 0 *männlich*, 1 *weiblich*), BMI (metrisch, kg/m<sup>2</sup>) und VK (metrisch, 0 < VK < 1) berücksichtigen zu können, wurden diese drei Variablen als Kovariaten mittels multipler linearer Regression, zusätzlich zum potentiellen Prädiktor k2 Ethanolabbau, zur Vorhersage der tagesspezifischen k3-Bildungskonstante (metrisch, ng/mL) von Ethylglucuronid berücksichtigt. Das Lebensalter als zusätzlicher Prädiktor wurde nicht herangezogen, da das ProbandInnenkollektiv altershomogen (min 21.1, max 28.0 Jahre) verteilt war. Entsprechend erfolgte die Berechnung des Regressionsmodells für die drei Versuchstage (d1, d2, d3) getrennt.

Die Voraussetzungen zur Berechnung dieser Inferenzstatistik konnten als erfüllt betrachtet werden; die Normalverteilung der standardisierten Residuen, keine Multikollinearität der Prädiktoren aufgrund der unauffälligen Toleranzwerte ( $T \geq .28$ ), Homoskedastizität zur Qualität der Schätzung sowie keine Autokorrelation der Residuen anhand der Durbin-Watson Statistik für die drei Versuchstage (DW = 2.11, 1.77, 2.00) konnten für alle drei Modellprüfungen bestätigt werden.

Die Aufnahme der Prädiktoren erfolgte blockweise hierarchisch in drei Schritten, um sukzessive den zunehmenden Erklärungswert beurteilen zu können. Im ersten Block wurde die personenbezogenen Kovariate BMI berücksichtigt, während im zweiten Block das Geschlecht und der Verteilungskoeffizient und schließlich im dritten Block die interindividuelle Ethanol-Abbaurate k2 hinzugezogen wurde.

Die nachfolgenden Tabelle 6 bis Tabelle 8 zeigen die Ergebnisse zur Prognose des tagesweisen k3 nach Berücksichtigung aller vier Variablen im dritten Block.

Tabelle 6 *Koeffizienten der Prädiktoren im Modell zur Vorhersage von k3 d1 (n = 19)*

Prädiktor	Nicht stand. Koeffizienten		Stand. Koeffizient	t	p	95% KI für B	
	B	SE	B			UG	OG
(Konstante)	-1394.67	719.27		-1.939	.073	-2937.35	148.01
BMI	39.681	11.703	.683	3.406	.004**	14.76	64.96
Geschlecht	24.087	83.810	.088	.287	.778	-155.67	203.84
VK	1173.10	476.36	.726	2.463	.027*	151.41	2194.80
k2	1601.09	2036.89	.276	.786	.445	-2767.62	5969.79

\*\* $p \leq .01$ , \* $p \leq .05$ ;  $F(4, 14) = 3.649$ ,  $p = .031$ ;  $R^2 = 51,0\%$ ,  $R^2_{adj.} = 37,1\%$

Tabelle 7 *Koeffizienten der Prädiktoren im Modell zur Vorhersage von k3 d2 (n = 19)*

Prädiktor	Nicht stand. Koeffizienten		Stand. Koeffizient	<i>t</i>	<i>p</i>	95% KI für B	
	<i>B</i>	<i>SE</i>	$\beta$			UG	OG
(Konstante)	-1664.12	749.22		-2.221	.043	-3271.03	-57.21
BMI	37.88	12.19	.633	3.107	.008**	11.73	64.02
Geschlecht	65.70	87.30	.233	0.753	.464	-121.54	252.93
VK	1396.74	496.19	.844	2.815	.014*	332.51	2460.97
k2	2489.10	2121.70	.418	1.173	.260	-2061.49	7039.69

\*\* $p \leq .01$ , \* $p \leq .05$ ;  $F(4, 14) = 3.424$ ,  $p = .038$ ;  $R^2 = 49,5\%$ ,  $R^2_{\text{adj.}} = 35,0\%$

Tabelle 8 *Koeffizienten der Prädiktoren im Modell zur Vorhersage von k3 d3 (n = 19)*

Prädiktor	Nicht stand. Koeffizienten		Stand. Koeffizient	<i>t</i>	<i>p</i>	95% KI für B	
	<i>B</i>	<i>SE</i>	$\beta$			UG	OG
(Konstante)	-1104.65	623.70		-1.771	.098	-2442.34	233.04
BMI	25.86	10.15	.534	2.548	.023*	4.09	74.62
Geschlecht	99.76	72.67	.437	1.373	.191	-56.11	255.63
VK	1113.11	413.06	.831	2.695	.017*	227.18	1999.04
k2	1697.06	1766.24	.353	0.961	.353	-2091.14	5485.26

\* $p \leq .05$ ;  $F(4, 14) = 3.040$ ,  $p = .053$ ;  $R^2 = 46,5\%$ ,  $R^2_{\text{adj.}} = 31,2\%$

Zusammenfassend zeigen die drei Modellprüfungen, dass der erklärte Varianzanteil  $R^2_{\text{adj}}$  am Kriterium k3 (Invasionskonstante von EtG) an den drei Versuchstagen zwischen 31.2% und 37.1% lag, womit eine akzeptable Modellgüte angenommen werden kann. Der BMI erwies sich jeweils an allen drei Versuchstagen als signifikanter Prädiktor ( $\beta = .53$  bis  $.68$ ) mit einem deutlichen Gewicht, d.h. mit zunehmendem BMI kann ein steigender k3 angenommen werden. Der VK erwies sich ebenso jeweils an allen drei Versuchstagen als signifikanter Prädiktor ( $\beta = .73$  bis  $.84$ ), ebenfalls mit einem deutlichen Gewicht, d.h. mit zunehmendem VK kann ein steigender k3 angenommen werden. Demgegenüber kam dem Geschlecht jeweils kein signifikanter Erklärungswert zu. Für die Ethanolabbaurate k2 war ebenfalls kein signifikanter Einfluss auf die k3-Zunahme zu verzeichnen, womit die Ergebnisse der o.a. Korrelationsanalysen bestätigt werden. Zur Vollständigkeit ist hier anzumerken, dass die versuchsweise Verwendung der tagesspezifischen Ethanolinvasionskonstante k1 in diesen multiplen linearen Regressionsmodellen anstelle von k2 ebenso keinen signifikanten Erklärungswert, d.h. keinen Einfluss auf die Variabilität der jeweiligen k3 erbrachte.



#### 4.4.3 Interkorrelationen der kinetischen Parameter

Die korrelativen Zusammenhänge  $r_{xy}$  zwischen der Eliminationskonstante  $k_2$ , der Invasionskonstanten  $k_3$  insgesamt und für alle drei Versuchstage (d1 - d3) sowie der Eliminationskonstante  $k_4$  sind in Tabelle 9 angeführt.

Tabelle 9 Interkorrelationsmatrix für die Zusammenhänge der Parameter  $k_2 - k_4$  ( $n = 19$ )

Kinetischer Parameter	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
(1) $k_2$	-	-.18	-.01	.09	.00	-.10
(2) $k_3$ d1		-	.71**	.69**	.84**	.21
(3) $k_3$ d2			-	.87**	.94**	.10
(4) $k_3$ d3				-	.92**	-.01
(5) $k_3$ gesamt					-	.12
(6) $k_4$						-

\*\* $p \leq .01$

Die internen Zusammenhänge von  $k_3$  zwischen den jeweiligen Versuchstagen zeigen mit Werten zwischen .69 und .87 hohe, wenngleich nicht perfekte Korrelationen, d.h. es kann eine gewisse tagesspezifische Variabilität von  $k_3$  angenommen werden. Demgegenüber konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen  $k_2$  mit den übrigen kinetischen Parametern festgestellt werden ( $r = -.18$  bis  $+.09$ ). Dieses Muster konnte ebenso für  $k_4$  verzeichnet werden ( $r = -.10$  bis  $+.21$ ). Die Abbildung 8 veranschaulicht den schwach negativen, nicht signifikanten Zusammenhang zwischen  $k_2$  und  $k_4$  ( $r = -.10$ ), d.h. es kann den beiden Abbaukonstanten eine weitgehende Unabhängigkeit voneinander unterstellt werden.

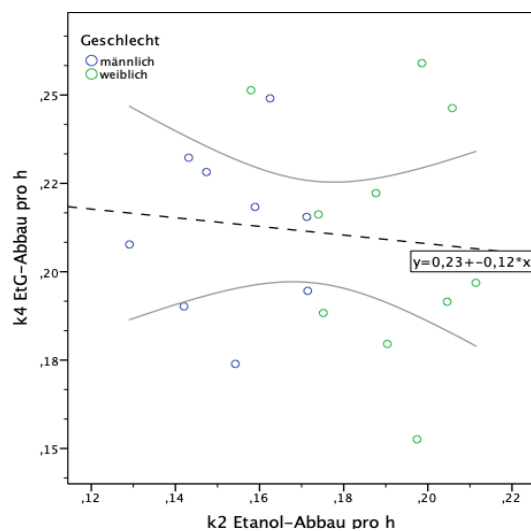


Abbildung 8. Bivariates Streudiagramm: Zusammenhang zwischen  $k_2$  und  $k_4$  unter Berücksichtigung des Geschlechts der ProbandInnen mit linearer Regressionsfunktion (95% KI)

#### 4.5 Zusammenhang Trinkmenge und Verteilungskoeffizient

In diesem Abschnitt werden der Verteilungskoeffizient VK und die durchschnittlich getrunkene Ethanolmenge bzgl. ihres Zusammenhanges untersucht. Der VK berücksichtigt die geschlechterabhängige, unterschiedliche Verteilung des aufgenommenen Ethanols bei Verabreichung gleicher Alkoholmengen, da Frauen durchschnittlich einen höheren Körperfettanteil aufweisen (abhängig von der Konstitution).

Der Zusammenhang zwischen Verteilungskoeffizient VK, der die Distribution vom aufgenommenen Alkohol im Körper repräsentiert und der über die drei Tage gemittelten Ethanolmenge (g pro kg Körpergewicht) wurde mittels Produkt-Moment-Korrelation bestimmt.

Für Männer zeigte sich mit  $r_{xy}(9) = .26$  ( $p = .252$ , einseitig, n.s.) eine schwach positive, jedoch nicht signifikante Korrelation, während für Frauen mit  $r_{xy}(10) = .82$  ( $p = .002$ , einseitig, sign.) eine deutlich signifikante Korrelation zu verzeichnen war. Demnach kann für Männer, im Gegensatz zu Frauen eine Unabhängigkeit des VK von der getrunkenen Ethanolmenge angenommen werden. Frauen hatten bei einem niedrigeren Verteilungskoeffizienten weniger Alkohol aufzunehmen, um einen entsprechenden Blutalkoholspiegel zu erreichen.

Die Prüfung der Unterschiedlichkeit der beiden Korrelationskoeffizienten mittels Fisher's  $r$ -to- $z$  Transformation ergab mit  $z = 1.61$ ,  $p = .054$  (einseitig) den Hinweis auf verschieden hohe Zusammenhänge.

Der korrigierte Zusammenhang, untersucht mittels partieller Korrelation unter Berücksichtigung der Kontrollvariable BMI, ergab für Männer  $r_{xy.z}(df=6) = .29$  ( $p = .246$ , einseitig, n.s.) und für Frauen  $r_{xy.z}(df=7) = .74$  ( $p = .011$ , einseitig, sign.). Die Prüfung der Unterschiedlichkeit dieser Diskrepanz zeigte mittels Fisher's  $r$ -to- $z$  Transformation nunmehr mit  $z = 1.19$  ( $p = .117$ , einseitig) schließlich keine signifikante Differenz der beiden Korrelationen.

Demnach kann dem BMI ein moderierender Einfluss für den Zusammenhang zwischen VK und getrunkenen Ethanolmenge unterstellt werden.

## 5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war, in einem dreitägigen Trinkversuch mit den erhobenen Messdaten von Ethanol und EtG, unter Annahme eines linearen Regressionsmodells, die Ethanol- und EtG-Kinetik zu modellieren und Zusammenhänge ihrer kinetischen Parameter herzustellen. Insbesondere interessierte, ob Trinkunterbrechungen (entsprechend einem Nachtrunkmodell) Veränderungen ihrer Kinetik bzw. ihrer Zusammenhänge induzieren. Die Konzeption des hier angewendeten Trinkmodells ist durchaus auf ein gesellschaftliches Trinkverhalten mit zwischenzeitlichen Trinkpausen übertragbar – entsprechend einem Alkoholkonsum, der am Abend beendet wird und – so wie in unserem Trinkmodell – nach 24 Stunden Pause am nächsten Tag fortgeführt wird.

Das ProbandInnenkollektiv umfasste – nach Ausschluss eines Probanden aufgrund fehlender Einzelwerte – schließlich  $N = 19$  (10 weibliche und 9 männliche Teilnehmende). Das mediane Lebensalter lag in der Gesamtstichprobe bei 23.4 (min. 21.1 - max. 28.0) Jahren und der mediane BMI bei 22.3 (min. 18.0 - max. 26.2)  $\text{kg/m}^2$ ; zwischen den Geschlechtern war kein relevanter Unterschied zu beobachten. Ebenso unterschieden sich die weiblichen ProbandInnen in weiteren soziodemographischen Eigenschaften wie Bildung, Trinkgewohnheiten bzw. Komorbiditäten nicht von den männlichen. Insgesamt war somit von einer adäquaten Vergleichbarkeit beider Geschlechter auszugehen.

Untersucht wurden zunächst Veränderungen der BAK- und EtG-Konzentrationen bei neuerlichem Trinkstart nach einer Trinkpause, sowie im Anschluss mögliche Veränderungen der Ethanol- und EtG-Bildungsgeschwindigkeit bzw. ihrer Elimination und deren jeweilige Zusammenhänge. Es gab 72 Messpunkte - sämtliche Messdaten für Ethanol und EtG wurden zur Analyse möglicher Zusammenhänge herangezogen und verglichen. Es zeigte sich, dass der BAK-Peak mit ca. 1 Promille an den drei Tagen durchschnittlich 120, 165 bzw. 180 Minuten ( $t_1/t_2/t_3$ ) nach Trinkbeginn erreicht wurde. Durch Zunahme der Trinkdauer erreichte die EtG-Konzentration erwartungsgemäß mit einer zeitlichen Verzögerung durchschnittlich 300, 330, 360 Minuten ( $t_1/t_2/t_3$ ) nach Trinkbeginn seinen Spitzenwert. Es zeigte sich trotz unterschiedlicher Trinkdauer, dass an allen drei Versuchstagen EtG mit einer vergleichbaren zeitlichen Verzögerung von etwa 3h seinen Spitzenwert erreichte, nachdem der BAK-Spitzenwert (ca. 1 Promille) gemessen wurde. Im Gegensatz zur BAK von etwa 1 Promille an allen drei aufeinander

folgenden Versuchstagen fand sich mit durchschnittlich  $1270.3 \pm 359.0$  ng/mL am ersten,  $1494.0 \pm 373.9$  ng/mL am zweiten sowie  $1518.7 \pm 311.2$  ng/mL am dritten Versuchstag eine deutliche Steigerung der maximal gemessenen EtG-Konzentrationen. Eine mögliche Korrelation der Spitzenwert-Konzentrationen von BAK und EtG an den jeweiligen Versuchstagen wurde untersucht – es zeigte sich mit  $r_s (n=19) = .56$  ( $p = .006$ , einseitig) lediglich für den ersten Tag ein signifikanter Zusammenhang der Spitzenkonzentration von BAK und EtG.

An allen drei Tagen konnte bereits zwölf Stunden nach Trinkbeginn keine BAK mehr festgestellt werden, womit die aus der Literatur bekannten Berechnungsmodelle bestätigt werden konnten. Im Gegensatz zur BAK konnte (bis auf lediglich eine ProbandIn an Tag 1 und 3) auch zwölf Stunden nach Trinkbeginn noch EtG im Blut nachgewiesen werden. Diese Beobachtung steht im Einklang mit vergleichbaren Studien<sup>95,113</sup>. Zu Beginn des zweiten und dritten Versuchstages, also jeweils ca. 24h nach letzter Alkoholaufnahme, war bei sämtlichen ProbandInnen erwartungsgemäß eine BAK von 0 Promille festzustellen. Nach Gegenüberstellung der vorliegenden EtG-Daten ist zusammenfassend festzuhalten, dass erwartungsgemäß am Beginn des zweiten und dritten Versuchstages EtG noch nachgewiesen werden konnte. Nach Alkoholaufnahme ist somit EtG länger als Ethanol im Blut messbar. Obwohl an allen drei Versuchstagen auf etwa 1 Promille BAK belastet wurde kam es, wie bereits angeführt, zudem zur laufenden Zunahme der morgendlichen EtG-Konzentration, was ebenso für einen höheren EtG-Spitzenwert an diesen Tagen maßgeblich war.

Mit den BAK- und EtG-Messdaten wurde anschließend unter Annahme eines linearen Regressionsmodells die BAK- und EtG-Kinetik sowie die Invasions- und Eliminationskonstanten beider Parameter modelliert. Die Invasionskonstante von EtG ( $k_3$ ) wurde für alle drei Versuchstage intraindividuell ermittelt und war interindividuell zu untersuchen, um eine statistisch relevante Unterschiedlichkeit entsprechend der variierenden Trinkzeit der drei Versuchstage interpretieren zu können. Trotz unterschiedlicher Trinkzeiten konnte für die intraindividuelle EtG-Bildung an den drei Tagen gemäß Reliabilitätsmaß Cronbach's-Alpha mit  $.896$  eine ausreichende Messgenauigkeit bestätigt werden. Mit varianzanalytischem Design wurde entsprechend die Veränderung von  $k_3$  über die drei Versuchstage unter Berücksichtigung des Geschlechts untersucht. Die Interaktion aus Zeit und Geschlecht ergab keinen überadditiven Effekt, womit die beiden Haupteffekte Zeit und Geschlecht

ohne Einschränkung interpretiert werden konnten. Somit war einerseits intraindividuell keine Veränderung für  $k_3$  über die drei Tage anzunehmen und ebenso war kein relevanter Unterschied in diesem Parameter zwischen weiblichen und männlichen Teilnehmenden zu beobachten. Es zeigte sich somit trotz unterschiedlicher Trinkgeschwindigkeiten und Trinkmengen an den drei Versuchstagen für die EtG-Invasionskonstanten keine signifikante Veränderung über die drei Tage, ebenso gab es keinen signifikanten Unterschied dieser Bildungskonstante zwischen den Geschlechtern. Es kann somit angenommen werden, dass unterschiedliche Trinkgeschwindigkeiten und Trinkmengen keinen Unterschied in der EtG-Bildungskonstante induzieren – EtG wird in Abhängigkeit von Ethanol intraindividuell stets konstant mit gleicher Geschwindigkeit gebildet.

Die EtG-Invasionskonstante ( $k_3$ ) lag bei durchschnittlich  $604.5 \pm 124.2$  ( $Md_{k_3} = 561.7$ ) [ng/mL]/[mg/g]\*h<sup>-1</sup>. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass nicht nur der Ethanolabbau, kapazitär durch NADP(H) als Kofaktor des oxidativen Abbaus limitiert, bei jedem Menschen interindividuell verschieden ausfallen kann, sondern auch die EtG-Bildung durch dessen enzymatischen Prozess weitgehend konstant stattfindet und somit reproduzierbar erscheint.

Ein interessanter Aspekt der Studie war zudem die Untersuchung eines möglichen geschlechterspezifischen Unterschiedes in der Eliminationsgeschwindigkeit von Ethanol ( $k_2$ ) und EtG ( $k_4$ ) und die Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs beider Abbauraten. Für die EtG-Elimination ( $k_4$ ) zeigte sich mit durchschnittlich  $.211 \pm .029$  ( $Md_{k_4} = .216$ ) [ng/mL]/[mg/g]\*h<sup>-1</sup>, so wie bei der EtG-Bildung ( $k_3$ ), eine Vergleichbarkeit der Geschlechter, es konnte kein signifikanter Unterschied in der EtG-Eliminationsrate zwischen Männern und Frauen gefunden werden. Die Analysen der beiden kinetischen Parameter  $k_3$  und  $k_4$  sind mit den Ergebnissen aus vergleichbaren Studien von Thieme et al. weitestgehend konform<sup>116</sup>. In der vorliegenden Studie wurde eine Ethanol-Eliminationskonstante ( $k_2$  bzw.  $\beta_{60}$ ) von durchschnittlich  $0,173 \pm 0,024$  ( $Md$  0,17) Promille/ Stunde ermittelt, was sich mit den bereits beschriebenen Abbauraten vergleichbarer Publikationen weitestgehend deckt. Für Frauen ( $M_{k_2} = 0,190 \pm 0,017$ ;  $Md_{k_2} = 0,194$ ) konnte zudem eine deutlich höhere Ethanol-Eliminationsrate mit einem Effekt von  $r = .77$  im Vergleich zu Männern ( $M_{k_2} = 0,153 \pm 0,014$ ;  $Md_{k_2} = 0,154$ ) verzeichnet werden, was in vergleichbaren Studien von Dettling

et al. ebenso gezeigt werden konnte<sup>50,51</sup>. Ein signifikanter Zusammenhang von  $k_2$  und  $k_4$  konnte nicht festgestellt werden (siehe Abschnitt weiter unten).

Zur Erstellung eines Berechnungsmodelles zur Vorhersagbarkeit der Konzentration von EtG wurde der Erklärungswert möglicher Einflussvariablen untersucht. Die Annahme, dass die Bildungskonstante von Ethanol ( $k_1$ ) mit jener von EtG ( $k_3$ ) in einem positiven Zusammenhang steht, war aufgrund korrelationsanalytischer Berechnungen für die drei Versuchstage zurückzuweisen; die Korrelationskoeffizienten wiesen mit  $r$  - .20 bis + .05 auf eine weitgehende Unabhängigkeit hin. Während für die BAK ein direkt proportionaler Zusammenhang zur aufgenommenen Ethanolmenge und Trinkgeschwindigkeit und damit auch eine raschere Anflutung bei Sturztrunk anzunehmen ist, erfolgt die EtG-Bildung in der Leber unabhängig davon mit einer konstanten Rate. Dies zeigte sich auch mittels korrelativer Prüfung der Spitzenwerte von BAK und EtG an den jeweiligen Tagen, wie bereits in einem vorherigen Abschnitt erwähnt wurde: Während am ersten Tag noch ein deutlich positiver Zusammenhang beider Spitzenwerte zu beobachten war, zeigte sich an den beiden Folgetagen keine eindeutige Korrelation. Es kann interpretiert werden, dass bei Aufnahme kleinerer Alkoholmengen über einen längeren Zeitraum EtG kumulativ zwar ansteigt, dies jedoch vom BAK-Maximum unabhängig erfolgt.

Im Rahmen der Auswertung wurde ebenso überprüft, ob verschiedene Parameter bzw. personen-bezogene Einflussgrößen Unterschiede in der EtG-Bildungskonstante zwischen Individuen induzieren. Zur Vorhersage der tagesspezifischen  $k_3$ -Bildungskonstante wurde daher mittels multipler linearer Regressionsanalyse der Einfluss von personenbezogenen Eigenschaften wie Geschlecht, BMI und VK sowie der zwischen den ProbandInnen interindividuell unterschiedlich schnelle Ethanolabbau ( $k_2$ ), welcher ebenfalls in der Leber stattfindet, untersucht. An allen drei Versuchstagen erwies sich der BMI mit einem deutlichen Beitrag als relevanter Prädiktor ( $\beta = .53$  bis  $.68$ ), d.h. bei höherem BMI ist von einer höheren EtG-Invasionskonstante auszugehen. Da EtG in Abhängigkeit von Glucose gebildet wird (enzymatischer Prozess mit Glucuronidierung), wären demnach bei Unterernährung (z.B. bei Anorexie) aufgrund niedrigerer Glucosespeicher im Körper niedrigere EtG-Bildungskonstanten anzunehmen. Dies lässt sich aus ethischen Gründen jedoch kaum überprüfen. Auch unter Berücksichtigung des VK in der Modellprüfung war ein deutlicher Einfluss zur Vorhersagbarkeit von  $k_3$  zu beobachten ( $\beta = .73$  bis  $.84$ ). Für das Geschlecht ( $\beta = .09$  bis  $.44$ ) konnte an allen drei Versuchstagen kein Einfluss festgestellt werden. Ebenso

zeigt die Ethanolabbaukonstante ( $\beta = .28$  bis  $.43$ ) keinen relevanten Einfluss auf die Bildungskonstante von EtG.

Darüber hinaus konnte beim korrelativen Vergleich der vier kinetischen Parameter  $k_1$ - $k_4$  erwartungsgemäß lediglich ein Zusammenhang der tagesspezifisch errechneten EtG-Invasionskonstanten ( $k_3$ ) untereinander bestätigt werden. U.a. konnte kein Zusammenhang zwischen der Abbaurate von Ethanol ( $k_2$ ) und EtG ( $k_4$ ) gefunden werden, es zeigte sich nur ein schwach negativer, nicht signifikanter Zusammenhang zwischen  $k_2$  und  $k_4$  ( $r = -.10$ ). Als Erklärungsansatz könnten die unterschiedlichen metabolischen Prozesse herangezogen werden. Ethanol wird u.a. durch Diffusionsvorgänge aus dem Darm direkt aufgenommen und resorbiert, der Ethanolabbau und die EtG-Bildung finden wiederum beide in der Leber statt, dies erfolgt jedoch durch unterschiedliche enzymatische Prozesse und daher unabhängig voneinander. Womöglich ist bei chronischen Leberschäden bzw. Leberinsuffizienz von niedrigeren  $k_2$ - und  $k_3$ -Konstanten auszugehen, was sich jedoch in Trinkversuchen aufgrund ethischer Rahmenbedingungen nicht überprüfen lässt. Die Ausscheidung von EtG erfolgt renal; somit ist auch hier erklärbar, warum kein Zusammenhang zur hepatalen Ethanolelimination zu erwarten war, was in der vorliegenden Studie ebenso bestätigt werden konnte.

An den drei aufeinander folgenden Versuchstagen musste erwartungsgemäß die Trinkmenge gesteigert werden, um aufgrund der zunehmend längeren Trinkzeiten an den Folgetagen den BAK-Spitzenwert von etwa 1 Promille zu erreichen. Bei beiden Geschlechtern zeigte sich mit  $F(1.28, 21.81) = 54.630$ ,  $p < .001$  eine signifikante Steigerung der erforderlichen Trinkmenge im Verlauf der Versuchstage, wobei für Frauen an den drei Versuchstagen vgl. mit Männern deutlich niedrigere Trinkmengen zu verzeichnen waren. Da bei Frauen von einem höheren Körperfettanteil auszugehen ist, wurde im Anschluss der geschlechterspezifisch unterschiedliche Verteilungskoeffizient (VK) für Ethanol im Körper (abhängig von der Konstitution) berücksichtigt und untersucht. Für Männer zeigte sich mit  $r = .26$  eine schwach positive, für Frauen jedoch mit  $r = .82$  eine deutliche Korrelation zwischen dem Verteilungskoeffizient und der Trinkmenge. Der korrigierte Zusammenhang – unter Berücksichtigung des BMI als Moderator – ergab für Männer schließlich  $r = .29$  und für Frauen  $r = .74$  für die Korrelation zwischen Trinkmenge und VK. Zusammenfassend ist festzustellen, dass im mathematischen Widmark-Modell zur Vorhersage von Blutalkohol dem Geschlecht womöglich nur indirekt eine Bedeutung zukommt. Da Frauen einen durchschnittlich

höheren Körperfettanteil aufweisen, wird ihnen häufig ein niedriger VK unterstellt. In einigen Studien wird eine Anpassung des Faktors abhängig von der Muskelmasse bzw. Konstitution vorgeschlagen<sup>66</sup>. Dies bestätigte sich auch in unserer Studie, da bei Frauen und Männern abhängig vom BMI ein unterschiedlicher Trainingszustand bzw. körperliche Fitness beobachtet werden konnte und demnach z.B. auch bei Männern mit niedrigem BMI ggf. ein höherer Körperfettanteil vorliegen kann. Folglich ist zu hinterfragen, ob dem Geschlecht in den gängigen Berechnungsmodellen eine zu hohe Gewichtung zugesprochen wird.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass das Studienziel erreicht und sämtliche Forschungsfragen beantwortet werden konnten, insbesondere konnten bedeutsame neue Kenntnisse zur EtG-Kinetik in einem Nachtrunkmodell gewonnen werden.

## **5.1 Limitationen**

Trotz der umfangreichen Datenmenge konnten aufgrund des vergleichsweise kleinen Stichprobenumfanges nur mittlere bis größere Effekte signifikant ausfallen. Ebenso ist anzumerken, dass mit einer Rate zwischen 0,37% (BAK-Messdaten) und 0,88% (EtG-Messdaten) Messdaten entweder fehlerbehaftet bzw. nicht protokolliert waren. Diese vergleichsweise geringe Quote weist auf eine hohe Datenqualität hin, wobei fehlende Messdaten nicht imputiert wurden.

## **5.2 Ausblick**

Vorstellbar wäre, die in dieser Studie vorliegenden Ergebnisse u.a. zur Beantwortung forensischer Fragestellungen wie z.B. zur Überprüfung von Nachtrunkbehauptungen nach Verkehrsdelikten heranzuziehen, um ein angegebenes Trinkverhalten besser überprüfen zu können. Basierend auf behaupteten Trinkangaben (u.a. angegebene Trinkzeit und Trinkmenge) und weiteren Informationen/ Daten der betroffenen Personen, wie z.B. Körpergewicht oder BMI, könnte unter Vergleich der bereits existierenden Modelle zur BAK (Widmark) im Vergleich zu den in dieser Studie erhobenen Kenntnissen zur EtG-Kinetik und den erforschten Zusammenhängen eine falsche Trinkangabe präziser überprüft und verlässlicher widerlegt werden.

Es sind weitere Untersuchungen mit breiter angelegten Fallzahlen zur Thematik anzuregen, um die in der vorliegenden Studie aufgezeigten Effekte weiter prüfen und belegen zu können.



## 6 Zusammenfassung

Ein stattgefunderer Alkoholkonsum kann u.a. im Rahmen von forensischen Analysen durch Messung der Atem- sowie Blutalkoholkonzentration überprüft werden. Gleichmaßen können Trinkbehauptungen zu einem kürzlich zurückliegenden Alkoholkonsum durch bereits etablierte mathematische Modelle, wie z.B. mit der angepassten Widmark Formel gegebenenfalls falsifiziert werden<sup>58</sup>. Die Invasions- und Eliminationskinetik von Ethanol nach Alkoholaufnahme ist in zahlreichen Studien ausführlich untersucht und erforscht. Bei länger zurückliegendem Konsum bzw. im Falle von Nachtrunkbehauptungen ergeben sich u.a. Probleme, das Trinkverhalten bzw. einen Alkoholkonsum akkurat nachweisen zu können, da selbst bei massiver Alkoholaufnahme und hohen Ausgangskonzentrationen unter Annahme einer Abbaurate von durchschnittlich 0,1-0,3 Promille ( $\beta_{60}$ ) davon auszugehen ist, dass nach ca. 24 Stunden Blutalkohol nicht mehr nachweisbar ist. Eine Blutalkoholmessung eignet sich somit lediglich zur Überprüfung eines kürzlich zurückliegenden Konsums.

Bei länger zurückliegendem Alkoholkonsum werden zusätzliche Parameter benötigt. Ethylglucuronid (EtG abgekürzt) ist ein Metabolit, der in der Leber in erster Linie nach stattgefundenem Alkoholkonsum in Abhängigkeit von Alkohol gebildet wird. EtG kann u.a. in Blut, Urin und Haaren nachgewiesen werden und ist länger als Ethanol nachweisbar. EtG bietet demnach Aufschlüsse über einen noch länger zurückliegenden Alkoholkonsum. In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen der BAK- und der EtG-Konzentration in einem standardisierten Trinkversuch, anhand drei aufeinander folgender Versuchstage untersucht, um im Rahmen der interessierenden Forschungsfragen zusätzliche Kenntnisse über die Kinetik und Zusammenhänge beider Parameter für forensische Berechnungsmodelle zu erlangen. In bisherigen Publikationen ist die Relation der BAK- und EtG-Kinetik in einem Nachtrunk-Modell bislang wenig berücksichtigt worden. Im Speziellen interessierte, inwiefern bei zurückliegendem Alkoholkonsum mit anschließender, definierter Trinkpause eine BAK-Konzentration zwar nicht mehr nachweisbar ist, jedoch die unter Umständen noch nachweisbare EtG-Konzentration an den Folgetagen durch einen erneuten Trinkbeginn weiter ansteigt.

Die Studie beruht auf einem prospektiven sowie klinisch-experimentellen Design. Im Erhebungszeitraum von insgesamt neun Monaten wurden 20 ProbandInnen an jeweils drei aufeinander folgenden Versuchstagen in vordefinierten Trinkzeiträumen mit

Alkohol auf einen Spitzenwert von ca. 1,0 Promille belastet. Die Trinkzeit an den jeweiligen Versuchstagen umfasste am ersten Tag eine Stunde, am Folgetag zwei Stunden, bzw. drei Stunden am letzten Tag. An insgesamt 72 Messpunkten wurde den ProbandInnen Blut abgenommen, jeweils ca. 1368 Messdaten zu BAK und EtG wurden erhoben. Nach Probenaufbereitung wurden im Anschluss mittels Gaschromatographie sowie Flüssigchromatographie/Massenspektrometrie die individuellen BAK- und EtG-Konzentrationen ermittelt und unter Annahme eines linearen Regressionsmodells zur anschließenden Berechnung der Invasions- und Eliminationskonstanten beider Parameter herangezogen.

In der Studie zeigte sich, dass EtG an allen drei Tagen mit einer Verzögerung von etwa 3h nach der BAK seine höchste Konzentration erreicht. Zudem findet sich an den drei aufeinander folgenden Versuchstagen eine deutliche Steigerung der maximal messbaren EtG-Konzentrationen, obwohl an allen drei Tagen ein Maximum von etwa 1 Promille BAK gemessen werden konnte. Am Ende eines jeweiligen Versuchstages war im Gegensatz zu EtG bei sämtlichen ProbandInnen BAK bereits nicht mehr feststellbar. Auch zu Beginn der Versuchstage zwei und drei, also etwa 24 Stunden, nachdem Alkohol zuletzt getrunken wurde, konnte EtG im Blut nachgewiesen werden. Die Ethanolbildungskonstante zeigte deutliche intra- und interindividuelle Unterschiede in Abhängigkeit von der Trinkmenge und Trinkgeschwindigkeit. Für die EtG-Invasionskonstanten zeigte sich, trotz unterschiedlicher Trinkgeschwindigkeit an den drei Versuchstagen, keine signifikante Veränderung. Die EtG-Bildung verlief mit einer relativ konstanten Rate, weitgehend unabhängig von der getrunkenen Alkoholmenge bzw. Trinkgeschwindigkeit. Ebenso fand sich kein signifikanter Unterschied der EtG-Bildungskonstante zwischen Männern und Frauen. Zudem konnte gezeigt werden, dass der BMI ein guter Prädiktor für die Vorhersage der Höhe der interindividuell unterschiedlichen EtG-Bildungskonstante sein könnte; für die Ethanolinvasions- und Abbaukonstante konnte hingegen kein relevanter Einfluss auf deren Höhe festgestellt werden. Für die EtG-Eliminationsrate fand sich wie bei der EtG-Bildungskonstante eine Vergleichbarkeit für beide Geschlechter. Ein Zusammenhang zwischen der Ethanol- und EtG-Abbauraten konnte nicht gefunden werden.

Die vorliegende Studie liefert wertvolle neue Kenntnisse zur Kinetik von Ethylglucuronid, um einen zurückliegenden Alkoholkonsum, insbesondere bei Trinkunterbrechungen, besser modellieren zu können.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Hannuksela, M.L., Liisanantti, M.K., Nissinen, A.E. & Savolainen, M.J. Biochemical markers of alcoholism. *Clinical Chemical Laboratory Medicine* **45**, 953-961 (2007).
2. Levitt, M.D., *et al.* Use of measurements of ethanol absorption from stomach and intestine to assess human ethanol metabolism. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **273**, G951-G957 (1997).
3. Gilg, T. Alkoholbedingte Fahruntüchtigkeit. *Rechtsmedizin* **15**(2005).
4. Levitt, M. & Levitt, D. The critical role of the rate of ethanol absorption in the interpretation of studies purporting to demonstrate gastric metabolism of ethanol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **269**, 297-304 (1994).
5. Wehner, H. Äthanol ausschöpfung im integrierten Gewebsraum. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* **89**, 105-114 (1982).
6. Roine, R.P., *et al.* Comparison of blood alcohol concentrations after beer and whiskey. *Alcoholism: clinical and experimental research* **17**, 709-711 (1993).
7. Singer, M.V., Eysselein, V. & Goebell, H. Beer and wine but not whisky and pure ethanol do stimulate release of gastrin in humans. *Digestion* **26**, 73-79 (1983).
8. Brinkmann, B., Naeve, W., Eichen, R. & Rehner, M. Beziehungen zwischen Pylorotonus und Resorptionsgeschwindigkeit von getrunkenem Ethylalkohol. *Blutalkohol* **7**, 358-367 (1970).
9. Holt, S. Observations on the relation between alcohol absorption and the rate of gastric emptying. *Canadian Medical Association Journal* **124**, 267 (1981).
10. Layer, P. Physiologie der Motilität des oberen Gastrointestinaltrakts. in *Störungen der Motilität des oberen Gastrointestinaltraktes* 1-11 (Springer, 1992).
11. Jones, A.W., Jönsson, K. & Kechagias, S. Effect of high - fat, high - protein, and high - carbohydrate meals on the pharmacokinetics of a small dose of ethanol. *British journal of clinical pharmacology* **44**, 521-526 (1997).
12. Horowitz, M., *et al.* Relationships between gastric emptying of solid and caloric liquid meals and alcohol absorption. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **257**, G291-G298 (1989).
13. Levitt, D.G. PKQuest: measurement of intestinal absorption and first pass metabolism-application to human ethanol pharmacokinetics. *BMC Clinical Pharmacology* **2**, 4 (2002).
14. Rogers, J., SMITH, J., Starmer, G. & Whitfield, J. Differing effects of carbohydrate, fat and protein on the rate of ethanol metabolism. *Alcohol and Alcoholism* **22**, 345-353 (1987).
15. RIMER, D.G. Gastric retention without mechanical obstruction: A review. *Archives of internal medicine* **117**, 287-299 (1966).

16. Wolf, S.G. & Wolff, H.G. *Human Gastric Function: An Experimental of a Man and His Stomach*, (Oxford University Press, 1943).
17. Grimes, D.S. & Goddard, J. Effect of cigarette smoking on gastric emptying. *Br Med J* **2**, 460-461 (1978).
18. Kalant, H. Pharmacokinetics of ethanol: absorption, distribution, and elimination. *The pharmacology of alcohol and alcohol dependence*, 15-58 (1996).
19. Hall, R., Carter, R., Brown, D. & Kendall, M. The effect of desmethylimipramine on the absorption of alcohol and paracetamol. *Postgraduate medical journal* **52**, 139-142 (1976).
20. Gibbons, D.O. & Lant, A.F. Effects of intravenous and oral propantheline and metoclopramide on ethanol absorption. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **17**, 578-584 (1975).
21. Roine, R., Gentry, R., Hernández-Munõz, R., Baraona, E. & Lieber, C.S. Aspirin increases blood alcohol concentrations in humans after ingestion of ethanol. *JAMA* **264**, 2406-2408 (1990).
22. Melander, O., Liden, A. & Melander, A. Pharmacokinetic interactions of alcohol and acetylsalicylic acid. *European journal of clinical pharmacology* **48**, 151-153 (1995).
23. Kechagias, S., Jönsson, K.-Å., Norlander, B., Carlsson, B. & Jones, A.W. Low-dose aspirin decreases blood alcohol concentrations by delaying gastric emptying. *European journal of clinical pharmacology* **53**, 241-246 (1997).
24. Weinberg, D.S., Burnham, D. & Berlin, J.A. Effect of Histamine - 2 Receptor Antagonists on Blood Alcohol Levels. *Journal of general internal medicine* **13**, 594-599 (1998).
25. Arora, S., Baraona, E. & Lieber, C.S. Alcohol levels are increased in social drinkers receiving ranitidine. *The American journal of gastroenterology* **95**, 208 (2000).
26. Goldstein, D.B. & Pal, N. Alcohol dependence produced in mice by inhalation of ethanol: grading the withdrawal reaction. *Science* **172**, 288-290 (1971).
27. Lachenmeier, D.W. Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin and inside the oral cavity. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* **3**, 26 (2008).
28. Wiberg, G.S., Samson, J.M., Maxwell, W.B., Coldwell, B.B. & Trenholm, H.L. Further studies on the acute toxicity of ethanol in young and old rats: relative importance of pulmonary excretion and total body water. *Toxicology and applied pharmacology* **20**, 22-29 (1971).
29. Moreno, A., Farres, J., Pares, X., Jornvall, H. & Persson, B. Molecular modelling of human gastric alcohol dehydrogenase (class IV) and substrate docking: differences towards the classical liver enzyme (class I). *FEBS letters* **395**, 99-102 (1996).
30. Jornvall, H. & Hoog, J.O. Nomenclature of alcohol dehydrogenases. *Alcohol Alcohol* **30**, 153-161 (1995).
31. Lieber, C., *et al.* Effect of chronic alcohol consumption on ethanol and acetaldehyde metabolism. in *Alcohol intoxication and withdrawal* 185-227 (Springer, 1975).

32. Howard, L.A., Miksys, S., Hoffmann, E., Mash, D. & Tyndale, R.F. Brain CYP2E1 is induced by nicotine and ethanol in rat and is higher in smokers and alcoholics. *British journal of pharmacology* **138**, 1376-1386 (2003).
33. Oneta, C.M., *et al.* Dynamics of cytochrome P4502E1 activity in man: induction by ethanol and disappearance during withdrawal phase. *Journal of hepatology* **36**, 47-52 (2002).
34. Leung, T.-M. & Nieto, N. CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology* **58**, 395-398 (2013).
35. Schneider, A. *Alkohol und Alkoholfolgekrankheiten: Grundlagen-Diagnostik-Therapie*, (Springer-Verlag, 2005).
36. Goedde, H., *et al.* Distribution of ADH 2 and ALDH2 genotypes in different populations. *Human genetics* **88**, 344-346 (1992).
37. Goedde, H.W., Harada, S. & Agarwal, D. Racial differences in alcohol sensitivity: a new hypothesis. *Human Genetics* **51**, 331-334 (1979).
38. Enomoto, N., Takase, S., Yasuhara, M. & Takada, A. Acetaldehyde metabolism in different aldehyde dehydrogenase - 2 genotypes. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **15**, 141-144 (1991).
39. Wilkin, J.K. The red face: flushing disorders. *Clinics in dermatology* **11**, 211-223 (1993).
40. Tetsuro, O., *et al.* The role of aldehyde dehydrogenase isozyme variance in alcohol sensitivity, drinking habits formation and the development of alcoholism in Japan, Taiwan and the Philippines. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **10**, 229-235 (1986).
41. Brooks, P.J., Enoch, M.-A., Goldman, D., Li, T.-K. & Yokoyama, A. The alcohol flushing response: an unrecognized risk factor for esophageal cancer from alcohol consumption. *PLoS medicine* **6**, e1000050 (2009).
42. Kijewski, H., Sprung, R. & Eggert, A. [Falsification of breath alcohol concentration measurement. An experimental and case report]. *Blutalkohol* **28**, 243-251 (1991).
43. Schoknecht, G., Fleck, K. & Kophamel-Röder, B. Beweissicherheit der Atemalkoholanalyse - Gutachten des Bundesgesundheitsamtes. *Unfall-und Sicherheitsforschung Straßenverkehr* **86**(1992).
44. Brettel, H.-F., Rupp, W. & Schleyerbach, R. Die Rolle der Leber beim sogenannten Resorptionsdefizit. Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* **79**, 217-223 (1977).
45. Spann, W. & Eisenmenger, W. Alkoholbegutachtung. (1989).
46. Gilg, T. Forensische Alkoholologie – Grundlagen und Deutsche Gegebenheiten. in *Klinisch-forensische Medizin: Interdisziplinärer Praxisleitfaden für Ärzte, Pflegekräfte, Juristen und Betreuer von Gewaltopfern* (eds. Grassberger, M., Yen, K. & Türk, E.E.) 499-513 (Springer Vienna, Vienna, 2013).
47. Haffner, H.-T. & Blank, J.H. Berechnung und Stellenwert der Blutalkoholkonzentration bei der Schuldfähigkeitsbeurteilung. in *Alkohol und Schuldfähigkeit* 69-89 (Springer, 2002).
48. Holford, N.H. Clinical pharmacokinetics of ethanol. *Clinical pharmacokinetics* **13**, 273-292 (1987).
49. Lundquist, F. & Wolthers, H. The kinetics of alcohol elimination in man. *Acta pharmacologica et toxicologica* **14**, 265-289 (1958).

50. Dettling, A., *et al.* Ethanol elimination rates in men and women in consideration of the calculated liver weight. *Alcohol* **41**, 415-420 (2007).
51. Dettling, A., Skopp, G., Graw, M. & Haffner, H.T. The influence of sex hormones on the elimination kinetics of ethanol. *Forensic Sci Int* **177**, 85-89 (2008).
52. Mezey, E., Potter, J.J. & Tsitouras, P.D. Liver alcohol dehydrogenase activity in the female rat: Effects of ovariectomy and estradiol administration. *Life sciences* **29**, 1171-1176 (1981).
53. Teschke, R., Wannagat, F.-J., Löwendorf, F. & Strohmeyer, G. Hepatic alcohol metabolizing enzymes after prolonged administration of sex hormones and alcohol in female rats. *Biochemical pharmacology* **35**, 521-527 (1986).
54. Torres, A., Kling, O. & Zeiner, A. EFFECTS OF ELEVATED FEMALE SEX STEROIDS ON ENZYME-INDUCTION IN RATS. in *ALCOHOLISM-CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH*, Vol. 9 187-187 (WILLIAMS & WILKINS 351 WEST CAMDEN ST, BALTIMORE, MD 21201-2436, 1985).
55. Montgomery, M.R. & Reasor, M.J. Retrograde extrapolation of blood alcohol data: an applied approach. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues* **36**, 281-292 (1992).
56. Niemelä, O. Biomarkers in alcoholism. *Clinica chimica acta* **377**, 39-49 (2007).
57. Thomasson, H.R. Gender differences in alcohol metabolism. in *Recent developments in alcoholism* 163-179 (Springer, 2002).
58. Widmark, E.M.P. *Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung*, (Urban & Schwarzenberg, 1932).
59. Aderjan, R., *et al.* Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) für forensische Zwecke - BAK-Richtlinien. **48**, 137-143 (2011).
60. Dettmeyer, R., Schütz, H. & Verhoff, M.A. *Rechtsmedizin*, (Springer, Berlin ; Heidelberg, 2014).
61. Grüner, O. Bestimmung des Körperwassergehaltes mit Hilfe von Alkohol. *Klinische Wochenschrift* **35**, 347-351 (1957).
62. Cowan Jr, J.M., Weathermon, A., McCutcheon, J.R. & Oliver, R.D. Determination of volume of distribution for ethanol in male and female subjects. *Journal of analytical toxicology* **20**, 287-290 (1996).
63. Frezza, M., *et al.* High blood alcohol levels in women: the role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. *New England Journal of Medicine* **322**, 95-99 (1990).
64. Taylor, J.L., Dolhert, N., Friedman, L., Mumenthaler, M. & Yesavage, J.A. Alcohol elimination and simulator performance of male and female aviators: a preliminary report. *Aviation, space, and environmental medicine* **67**, 407-413 (1996).
65. Goist Jr, K.C. & Sutker, P.B. Acute alcohol intoxication and body composition in women and men. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **22**, 811-814 (1985).
66. Giebe, W. & Götze, G. Experimentelle Untersuchungen zur Bestimmung des Widmark-Faktors. *Rechtsmedizin* **8**, 61-63 (1998).

67. Ulrich, L., Cramer, Y. & Zink, P. Die Berücksichtigung individueller Parameter bei der Errechnung des Blutalkoholgehaltes aus der Trinkmenge. *Blutalkohol* **24**(1987).
68. Seidl, S., Jensen, U. & Alt, A. The calculation of blood ethanol concentrations in males and females. *International journal of legal medicine* **114**, 71-77 (2000).
69. Schrier, R.W. Body water homeostasis: clinical disorders of urinary dilution and concentration. *Journal of the American Society of Nephrology* **17**, 1820-1832 (2006).
70. Neuhäuser-Berthold, M., Beine, S., Verwied, S.C. & Lührmann, P.M. Coffee consumption and total body water homeostasis as measured by fluid balance and bioelectrical impedance analysis. *Annals of nutrition and metabolism* **41**, 29-36 (1997).
71. Stibler, H. Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clinical chemistry* **37**, 2029-2037 (1991).
72. Allen, J.P., Litten, R.Z., Anton, R.F. & Cross, G.M. Carbohydrate - Deficient Transferrin as a Measure of Immoderate Drinking: Remaining Issues. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **18**, 799-812 (1994).
73. Henriksen, J.H., Grønbaek, M., Møller, S., Bendtsen, F. & Becker, U. Carbohydrate deficient transferrin (CDT) in alcoholic cirrhosis: a kinetic study. *Journal of hepatology* **26**, 287-292 (1997).
74. Arndt, T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. *Clinical chemistry* **47**, 13-27 (2001).
75. Soyka, M. *Die Alkoholkrankheit: Diagnose und Therapie; mit 40 Tabellen*, (Chapman and Hall, 69469, Weinheim, 1995).
76. Thierauf, A., Perdekamp, M.G., Weinmann, W. & Auwärter, V. Alkoholkonsummarker. *Rechtsmedizin* **21**, 69-79 (2011).
77. Hietala, J., Koivisto, H., Anttila, P. & Niemelä, O. Comparison of the combined marker GGT-CDT and the conventional laboratory markers of alcohol abuse in heavy drinkers, moderate drinkers and abstainers. *Alcohol and Alcoholism* **41**, 528-533 (2006).
78. Hock, B., *et al.* Validity of carbohydrate - deficient transferrin (% CDT),  $\gamma$  - glutamyltransferase ( $\gamma$  - GT) and mean corpuscular erythrocyte volume (MCV) as biomarkers for chronic alcohol abuse: a study in patients with alcohol dependence and liver disorders of non - alcoholic and alcoholic origin. *Addiction* **100**, 1477-1486 (2005).
79. Murawaki, Y., Sugisaki, H., Yuasa, I. & Kawasaki, H. Serum carbohydrate-deficient transferrin in patients with nonalcoholic liver disease and with hepatocellular carcinoma. *Clinica chimica acta* **259**, 97-108 (1997).
80. STAUBER, R.E., *et al.* Evaluation of carbohydrate-deficient transferrin for detection of alcohol abuse in patients with liver dysfunction. *Alcohol and Alcoholism* **30**, 171-176 (1995).
81. Das, S., Dhanya, L. & Vasudevan, D. Biomarkers of alcoholism: an updated review. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* **68**, 81 (2008).

82. Anders, M. Metabolism of drugs by the kidney. *Kidney international* **18**, 636-647 (1980).
83. Wurst, F.M., *et al.* Concentration of fatty acid ethyl esters in hair of alcoholics: comparison to other biological state markers and self reported-ethanol intake. *Alcohol and alcoholism* **39**, 33-38 (2004).
84. Varga, A., Hansson, P., Johnson, G. & Alling, C. Normalization rate and cellular localization of phosphatidylethanol in whole blood from chronic alcoholics. *Clinica Chimica Acta* **299**, 141-150 (2000).
85. Doyle, K.M., *et al.* Fatty acid ethyl esters in the blood as markers for ethanol intake. *Jama* **276**, 1152-1156 (1996).
86. Borucki, K., *et al.* In heavy drinkers, fatty acid ethyl esters remain elevated for up to 99 hours. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **31**, 423-427 (2007).
87. Pragst, F. & Yegles, M. Determination of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in hair: a promising way for retrospective detection of alcohol abuse during pregnancy? in *Therapeutic Drug Monitoring*, Vol. 30 255-263 (LWW, 2008).
88. Kamil, I., Smith, J. & Williams, R. Studies in detoxication. 50. The isolation of methyl and ethyl glucuronides from the urine of rabbits receiving methanol and ethanol. *Biochemical Journal* **54**, 390 (1953).
89. Jaakonmaki, P., Knox, K., Horning, E. & Horning, M. The characterization by gas-liquid chromatography of ethyl  $\beta$ -D-glucosiduronic acid as a metabolite of ethanol in rat and man. *European journal of pharmacology* **1**, 63-70 (1967).
90. Kozu, T. Gas chromatographic analysis of ethyl- $\beta$ -D-glucuronide in human urine. *Shinzu Igaku Zasshi* **21**, 595-601 (1973).
91. Wurst, F.M., Skipper, G.E. & Weinmann, W. Ethyl glucuronide—the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction* **98**, 51-61 (2003).
92. Wurst, F.M., *et al.* Measurement of direct ethanol metabolites in a case of a former driving under the influence (DUI) of alcohol offender, now claiming abstinence. *International journal of legal medicine* **122**, 235-239 (2008).
93. Stephanson, N., Dahl, H., Helander, A. & Beck, O. Direct quantification of ethyl glucuronide in clinical urine samples by liquid chromatography-mass spectrometry. *Therapeutic drug monitoring* **24**, 645-651 (2002).
94. Droenner, P., Schmitt, G., Aderjan, R. & Zimmer, H. A kinetic model describing the pharmacokinetics of ethyl glucuronide in humans. *Forensic science international* **126**, 24-29 (2002).
95. Halter, C.C., Dresen, S., Auwaerter, V., Wurst, F.M. & Weinmann, W. Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake. *International journal of legal medicine* **122**, 123-128 (2008).
96. Dahl, H., Stephanson, N., Beck, O. & Helander, A. Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol and ethyl glucuronide. *Journal of Analytical Toxicology* **26**, 201-204 (2002).
97. Bock, K.W. Vertebrate UDP-glucuronosyltransferases: functional and evolutionary aspects. *Biochemical pharmacology* **66**, 691-696 (2003).



98. Foti, R.S. & Fisher, M.B. Assessment of UDP-glucuronosyltransferase catalyzed formation of ethyl glucuronide in human liver microsomes and recombinant UGTs. *Forensic science international* **153**, 109-116 (2005).
99. Stachel, N. & Skopp, G. In vitro characterization of glucuronosyl- and sulfotransferases involved in the conjugation of ethanol. *Archiv fur Kriminologie* **235**, 29-42 (2015).
100. Tukey, R.H. & Strassburg, C.P. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annual review of pharmacology and toxicology* **40**, 581-616 (2000).
101. Strassburg, C.P., Nguyen, N., Manns, M.P. & Tukey, R.H. Polymorphic Expression of the UDP-Glucuronosyltransferase UGT1A Gene Locus in Human Gastric Epithelium. *Molecular Pharmacology* **54**, 647-654 (1998).
102. Kroemer, H.K. & Klotz, U. Glucuronidation of drugs. *Clinical pharmacokinetics* **23**, 292-310 (1992).
103. Raftogianis, R.B., Wood, T.C. & Weinshilboum, R.M. Human phenol sulfotransferases SULT1A2 and SULT1A1: genetic polymorphisms, allozyme properties, and human liver genotype-phenotype correlations. *Biochemical pharmacology* **58**, 605-616 (1999).
104. Thomae, B.A., *et al.* Human catecholamine sulfotransferase (SULT1A3) pharmacogenetics: functional genetic polymorphism. *Journal of neurochemistry* **87**, 809-819 (2003).
105. Daly, A. Pharmacogenetics of the major polymorphic metabolizing enzymes. *Fundamental & clinical pharmacology* **17**, 27-41 (2003).
106. Carlini, E.J., *et al.* Sulfation pharmacogenetics: SULT1A1 and SULT1A2 allele frequencies in Caucasian, Chinese and African-American subjects. *Pharmacogenetics and Genomics* **11**, 57-68 (2001).
107. Schneider, H. & Glatt, H. Sulpho-conjugation of ethanol in humans in vivo and by individual sulphotransferase forms in vitro. *Biochemical Journal* **383**, 543-549 (2004).
108. Lampe, J.W., Bigler, J., Bush, A.C. & Potter, J.D. Prevalence of polymorphisms in the human UDP-glucuronosyltransferase 2B family: UGT2B4 (D458E), UGT2B7 (H268Y), and UGT2B15 (D85Y). *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* **9**, 329-333 (2000).
109. Strassburg, C.P., *et al.* Polymorphic gene regulation and interindividual variation of UDP-glucuronosyltransferase activity in human small intestine. *Journal of Biological Chemistry* **275**, 36164-36171 (2000).
110. Bhasker, C.R., *et al.* Genetic polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7) at amino acid 268: ethnic diversity of alleles and potential clinical significance. *Pharmacogenetics and Genomics* **10**, 679-685 (2000).
111. Lostia, A.M., Vicente, J.L. & Cowan, D.A. Measurement of ethyl glucuronide, ethyl sulphate and their ratio in the urine and serum of healthy volunteers after two doses of alcohol. *Alcohol and alcoholism* **48**, 74-82 (2012).
112. Høiseth, G., Morini, L., Poletini, A., Christophersen, A. & Mørland, J. Blood kinetics of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Forensic science international* **188**, 52-56 (2009).
113. Høiseth, G., *et al.* A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine: applications to forensic toxicology. *Forensic science international* **172**, 119-124 (2007).

114. Schmitt, G., Droenner, P., Skopp, G. & Aderjan, R. Ethyl glucuronide concentration in serum of human volunteers, teetotalers, and suspected drinking drivers. *Journal of Forensic Science* **42**, 1099-1102 (1997).
115. Neumann, T., *et al.* Value of ethyl glucuronide in plasma as a biomarker for recent alcohol consumption in the emergency room. *Alcohol & Alcoholism* **43**, 431-435 (2008).
116. Thieme, D., Sachs, H. & Graw, M. Forensischer Nutzen der Ethylglukuronidbestimmung in Blut, Urin und Haaren. *Zeitschrift fuer Verkehrssicherheit* **62**(2016).
117. Zeren, C., *et al.* Demonstration of ethyl glucuronide in dental tissue samples by liquid chromatography/electro-spray tandem mass spectrometry. *Journal of forensic and legal medicine* **20**, 706-710 (2013).
118. Kissack, J.C., Bishop, J. & Roper, A.L. Ethylglucuronide as a biomarker for ethanol detection. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* **28**, 769-781 (2008).
119. Morini, L., Colucci, M., Ruberto, M.G. & Groppi, A. Determination of ethyl glucuronide in nails by liquid chromatography tandem mass spectrometry as a potential new biomarker for chronic alcohol abuse and binge drinking behavior. *Analytical and bioanalytical chemistry* **402**, 1865-1870 (2012).
120. Hoiseth, G., *et al.* Ethyl glucuronide concentrations in oral fluid, blood, and urine after volunteers drank 0.5 and 1.0 g/kg doses of ethanol. *J Anal Toxicol* **34**, 319-324 (2010).
121. Palmer, R.B. A review of the use of ethyl glucuronide as a marker for ethanol consumption in forensic and clinical medicine. in *Seminars in diagnostic pathology*, Vol. 26 18-27 (Elsevier, 2009).
122. Walsham, N.E. & Sherwood, R.A. Ethyl glucuronide. *Annals of clinical biochemistry* **49**, 110-117 (2012).
123. Pragst, F. & Balikova, M.A. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta* **370**, 17-49 (2006).
124. SKOPP, G., *et al.* Ethyl glucuronide in human hair. *Alcohol and Alcoholism* **35**, 283-285 (2000).
125. Alt, A., Janda, I., Seidl, S. & Wurst, F.-M. Determination of ethyl glucuronide in hair samples. *Alcohol and Alcoholism* **35**, 313-314 (2000).
126. Janda, I., Weinmann, W., Kuehnle, T., Lahode, M. & Alt, A. Determination of ethyl glucuronide in human hair by SPE and LC-MS/MS. *Forensic science international* **128**, 59-65 (2002).
127. Appenzeller, B.M., Agirman, R., Neuberg, P., Yegles, M. & Wennig, R. Segmental determination of ethyl glucuronide in hair: a pilot study. *Forensic Science International* **173**, 87-92 (2007).
128. Kronstrand, R., Brinkhagen, L. & Nyström, F.H. Ethyl glucuronide in human hair after daily consumption of 16 or 32 g of ethanol for 3 months. *Forensic science international* **215**, 51-55 (2012).
129. Yegles, M., *et al.* Comparison of ethyl glucuronide and fatty acid ethyl ester concentrations in hair of alcoholics, social drinkers and teetotalers. *Forensic science international* **145**, 167-173 (2004).
130. Schubert, W. & Mattern, R. Urteilsbildung in der medizinisch-psychologischen Fahreignungsdiagnostik-Beurteilungskriterien. *Kirschbaumverlag, Bonn* (2009).

131. Dresen, S., Weinmann, W. & Wurst, F.M. Forensic confirmatory analysis of ethyl sulfate—a new marker for alcohol consumption—by liquid-chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **15**, 1644-1648 (2004).
132. Politi, L., *et al.* Direct determination of the ethanol metabolites ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* **19**, 1321-1331 (2005).
133. Bicker, W., *et al.* Validated Method for the Determination of the Ethanol Consumption Markers Ethyl Glucuronide, Ethyl Phosphate, and Ethyl Sulfate in Human Urine by Reversed-Phase/Weak Anion Exchange Liquid Chromatography– Tandem Mass Spectrometry. *Analytical chemistry* **78**, 5884-5892 (2006).
134. Favretto, D., *et al.* A novel and an effective analytical approach for the LC-MS determination of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine. *International journal of legal medicine* **124**, 161-164 (2010).
135. Arndt, T., Gierten, B., Güssregen, B., Werle, A. & Grüner, J. False-positive ethyl glucuronide immunoassay screening associated with chloral hydrate medication as confirmed by LC-MS/MS and self-medication. *Forensic science international* **184**, e27-e29 (2009).
136. Böttcher, M., Beck, O. & Helander, A. Evaluation of a new immunoassay for urinary ethyl glucuronide testing. *Alcohol & Alcoholism* **43**, 46-48 (2007).
137. Zimmer, H., Schmitt, G. & Aderjan, R. Preliminary immunochemical test for the determination of ethyl glucuronide in serum and urine: comparison of screening method results with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of analytical toxicology* **26**, 11-16 (2002).
138. Schloegl, H., *et al.* Stability of ethyl glucuronide in urine, post-mortem tissue and blood samples. *International journal of legal medicine* **120**, 83-88 (2006).
139. Høiset, G., *et al.* Disappearance of ethyl glucuronide during heavy putrefaction. *Forensic science international* **176**, 147-151 (2008).
140. Helander, A. & Dahl, H. Urinary tract infection: a risk factor for false-negative urinary ethyl glucuronide but not ethyl sulfate in the detection of recent alcohol consumption. *Clinical Chemistry* **51**, 1728-1730 (2005).
141. Baranowski, S., *et al.* In vitro study of bacterial degradation of ethyl glucuronide and ethyl sulphate. *International journal of legal medicine* **122**, 389-393 (2008).
142. Helander, A., Olsson, I. & Dahl, H. Postcollection synthesis of ethyl glucuronide by bacteria in urine may cause false identification of alcohol consumption. *Clinical Chemistry* **53**, 1855-1857 (2007).
143. Rosano, T.G. & Lin, J. Ethyl glucuronide excretion in humans following oral administration of and dermal exposure to ethanol. *Journal of analytical toxicology* **32**, 594-600 (2008).
144. Costantino, A., DiGregorio, E.J., Korn, W., Spayd, S. & Rieders, F. The effect of the use of mouthwash on ethylglucuronide concentrations in urine. *Journal of analytical toxicology* **30**, 659-662 (2006).

145. Beyer, J., Gerostamoulos, D. & Drummer, O. Comments on "The effect of the use of mouthwash on ethylglucuronide concentration in urine". *Journal of analytical toxicology* **31**, 294-295 (2007).
146. Musshoff, F., Albermann, E. & Madea, B. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine after consumption of various beverages and foods—misleading results? *International journal of legal medicine* **124**, 623-630 (2010).
147. Arndt, T., Schröfel, S. & Stemmerich, K. Ethyl glucuronide identified in commercial hair tonics. *Forensic science international* **231**, 195-198 (2013).
148. Wojcik, M.H. & Hawthorne, J.S. Sensitivity of commercial ethyl glucuronide (ETG) testing in screening for alcohol abstinence. *Alcohol and Alcoholism* **42**, 317-320 (2007).
149. Høiseth, G., *et al.* Comparison between the urinary alcohol markers EtG, EtS, and GTOL/5-HIAA in a controlled drinking experiment. *Alcohol & Alcoholism* **43**, 187-191 (2008).
150. Helander, A. & Beck, O. Ethyl sulfate: a metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. *Journal of analytical toxicology* **29**, 270-274 (2005).
151. Helander, A., Böttcher, M., Fehr, C., Dahmen, N. & Beck, O. Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol & Alcoholism* **44**, 55-61 (2008).
152. Wurst, F.M., Seidl, S., Ladewig, D., Müller - Spahn, F. & Alt, A. Ethyl glucuronide: on the time course of excretion in urine during detoxification. *Addiction Biology* **7**, 427-434 (2002).
153. Alt, A. & SEIDL, S. Bestimmung von Ethylglucuronid in Urinproben mit dem internen Standard d5-Ethylglucuronid. *Blutalkohol* **34**(1997).
154. Borucki, K., *et al.* Detection of recent ethanol intake with new markers: comparison of fatty acid ethyl esters in serum and of ethyl glucuronide and the ratio of 5 - hydroxytryptophol to 5 - hydroxyindole acetic acid in urine. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **29**, 781-787 (2005).
155. Alt, A., Wurst, F.M. & Seidl, S. Evaluation of the ethylglucuronide in urine samples with the internal standard d5-ethylglucuronide. *Blutalkohol* **34**, 360-365 (1997).
156. Kip, M.J., *et al.* The usefulness of direct ethanol metabolites in assessing alcohol intake in nonintoxicated male patients in an emergency room setting. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **32**, 1284-1291 (2008).
157. Junghanns, K., *et al.* Urinary ethyl glucuronide (EtG) and ethyl sulphate (EtS) assessment: valuable tools to improve verification of abstinence in alcohol - dependent patients during in - patient treatment and at follow - ups. *Addiction* **104**, 921-926 (2009).
158. Erim, Y., *et al.* Urinary ethyl glucuronide testing detects alcohol consumption in alcoholic liver disease patients awaiting liver transplantation. *Liver transplantation* **13**, 757-761 (2007).
159. Webzell, I., *et al.* Substance use by liver transplant candidates: an anonymous urinalysis study. *Liver Transplantation* **17**, 1200-1204 (2011).
160. Neubekanntmachung der Richtlinie gem. § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2 und 5 TPG für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur

- Lebertransplantation Allgemeiner Teil – Besonderer Teil. (Deutsches Ärzteblatt, 2023).
161. Wurst, F.M., *et al.* Ethyl sulphate: a direct ethanol metabolite reflecting recent alcohol consumption. *Addiction* **101**, 204-211 (2006).
  162. Helander, A. & Beck, O. Mass spectrometric identification of ethyl sulfate as an ethanol metabolite in humans. *Clinical Chemistry* **50**, 936-937 (2004).
  163. Halter, C.C., *et al.* Assessment of the stability of the ethanol metabolite ethyl sulfate in standardised degradation tests. *Forensic science international* **186**, 52-55 (2009).
  164. Schmitt, G., Halter, C.C., Aderjan, R., Auwaerter, V. & Weinmann, W. Computer assisted modeling of ethyl sulfate pharmacokinetics. *Forensic science international* **194**, 34-38 (2010).
  165. Schmitt, G., Aderjan, R., Keller, T. & Wu, M. Ethyl glucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. *Journal of analytical toxicology* **19**, 91-94 (1995).
  166. Bittrich, K. & Blankenberger, S. *Experimentelle Psychologie*, (Beltz, Weinheim, 2011).
  167. KGaA, D.g.S.A.C. Alcotest® 7110 MKIII A Atemalkoholmessgerät. Vol. 90 33 348 - GA 4753.200 (Dräger Safety AG & Co. KGaA, Revalstraße 1, 23560 Lübeck, Germany, 2012).
  168. Aderjan, R., *et al.* Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) für forensische Zwecke. *Blutalkohol* **48**, 137-143 (2011).
  169. PerkinElmer, I. TurboMatrix Headspace Sampler and HS 40/110 Trap User's Guide. Vol. M0413401 User Guide (PerkinElmer, Inc., 710 Bridgeport Avenue Shelton, Connecticut 06484-4794 U.S.A., 2008).
  170. Perkin Elmer, I. Clarus 500/ 580 GC User's Guide. Vol. 09936625 (PerkinElmer, Inc., 710 Bridgeport Avenue Shelton, Connecticut 06484-4794 U.S.A., 2010).
  171. Perkin Elmer, I. TotalChrom Workstation User's Guide - Volume I. Vol. N515-6023 (Perkin Elmer, Inc., 710 Bridgeport Avenue Shelton, Connecticut 06484-4794 U.S.A., 2004).
  172. GmbH, R.C.I. Arbeitsanleitung ClinMass® LC-MS/MS Komplettkit Ethylglukuronid und Ethylsulfat im Urin, Plasma und Serum. Vol. MS8000, MS8100 (RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, Dessauerstraße 3, 80992 München, 2016).
  173. Technologies, A. Agilent 1290 Infinity LC System. Systemhandbuch und Kurzanleitung. Vol. G4220-92301 (Agilent Technologies, 76337 Waldbronn, Germany, 2012).
  174. Ltd, A.S.P. Today's most sensitive and selective QTRAP®. in *AB Sciex Pte. Ltd*, Vol. 0280610-02 (ed. Ltd, A.S.P.) (AB Sciex Pte. Ltd, 110 Marsh Drive | Foster City CA 94404 USA, 2011).
  175. Cohen, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*, (Academic press, 2013).
  176. Bortz, J. & Döring, N. *Forschungsmethoden und Evaluation für Human- und Sozialwissenschaftler*, (Springer, Heidelberg, 2006).
  177. Field, A. *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*, (SAGE, Los Angeles ; London ; New Delhi ; Singapore ; Washington DC ; Melbourne, 2018).

178. Weiß, C. *Basiswissen medizinische Statistik [mit Epidemiologie] ; mit ... 20 Tabellen*, (2013).
179. Bortz, J. & Schuster, C. *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler*, (Springer, Berlin [u.a.], 2010).
180. Fisher, R.A. Frequency Distribution of the Values of the Correlation Coefficient in Samples from an Indefinitely Large Population. *Biometrika* **10**, 507-521 (1915).
181. Lowry, R. Two Correlation Coefficients. Vol. 2021 (Richard Lowry, 2001-2021).
182. Bühl, A. *SPSS 20*, (Pearson, München [u.a.], 2012).
183. Moosbrugger, H. *Testtheorie und Fragebogenkonstruktion*, (Springer, Berlin [u.a.], 2012).

## 8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Anzahl und Anteilwert fehlender bzw. auszuschließender Einzelwerte ( $n=1368$ ) .....	29
Tabelle 2 Kennwerte des BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) bezüglich des Geschlechts der ProbandInnen	34
Tabelle 3 Kennwerte $M \pm SD$ der täglichen Trinkmenge Ethanol in g unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden .....	34
Tabelle 4 Kennwerte der getrunkenen Ethanolmenge ( $\text{g}/\text{kg KG}$ ) unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden .....	35
Tabelle 5 Charakteristika der BAK und EtG-Kinetik $k_1$ - $k_4$ ( $n=19$ ) .....	40
Tabelle 6 Koeffizienten der Prädiktoren im Modell zur Vorhersage von $k_3 d_1$ ( $n = 19$ ) .....	43
Tabelle 7 Koeffizienten der Prädiktoren im Modell zur Vorhersage von $k_3 d_2$ ( $n = 19$ ) .....	44
Tabelle 8 Koeffizienten der Prädiktoren im Modell zur Vorhersage von $k_3 d_3$ ( $n = 19$ ) .....	44
Tabelle 9 Interkorrelationsmatrix für die Zusammenhänge der Parameter $k_2$ - $k_4$ ( $n = 19$ ) .....	45

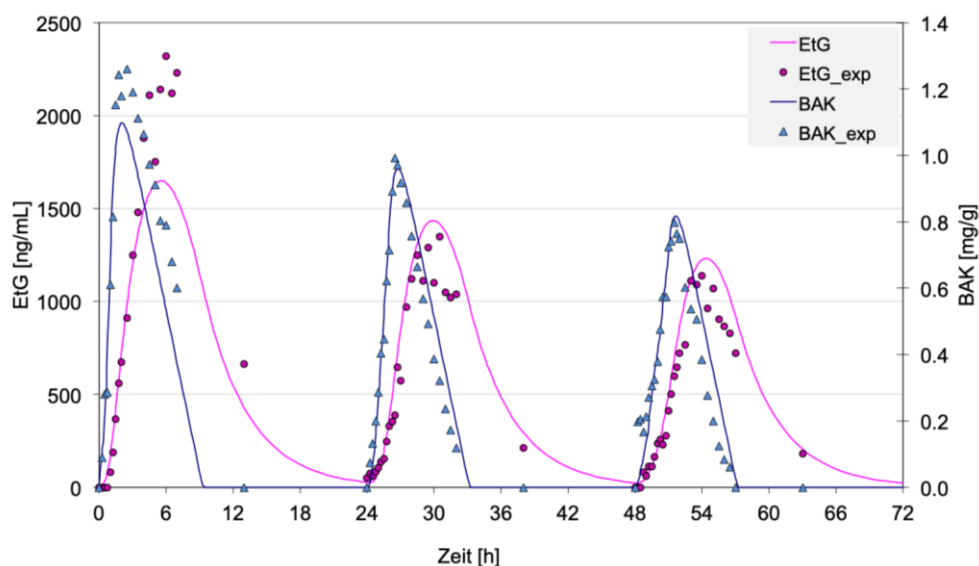
## 9 **Abbildungsverzeichnis**

<i>Abbildung 1.</i> Altersstruktur (Jahre) der Stichprobe bzgl. des Geschlechts der ProbandInnen .....	33
<i>Abbildung 2.</i> Verteilung des BMI ( $\text{kg/m}^2$ ) bezüglich des Geschlechts der Teilnehmenden.....	34
<i>Abbildung 3.</i> Durchschnittlich getrunkene Ethanolmenge in g ( $\pm 1$ SD) unter Berücksichtigung des Geschlechts der Teilnehmenden.....	35
<i>Abbildung 4.</i> Mittleres Ausmaß ( $\pm 1$ SD) der Invasion von EtG (k3) an den drei Tagen bezüglich des Geschlechts der Teilnehmenden .....	41
<i>Abbildung 5.</i> Bivariates Streudiagramm: Zusammenhang zwischen k1 und k3 unter Berücksichtigung des Geschlechts der ProbandInnen mit linearer Regressionsfunktion (95% KI) .....	42
<i>Abbildung 6.</i> Bivariates Streudiagramm: Zusammenhang zwischen k2 und k4 unter Berücksichtigung des Geschlechts der ProbandInnen mit linearer Regressionsfunktion (95% KI) .....	45

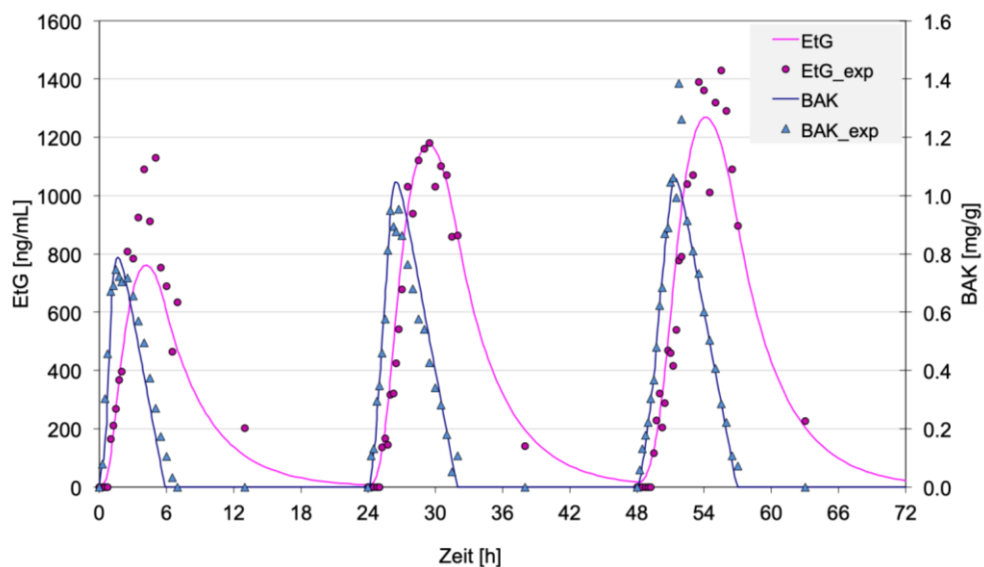


## Anhang

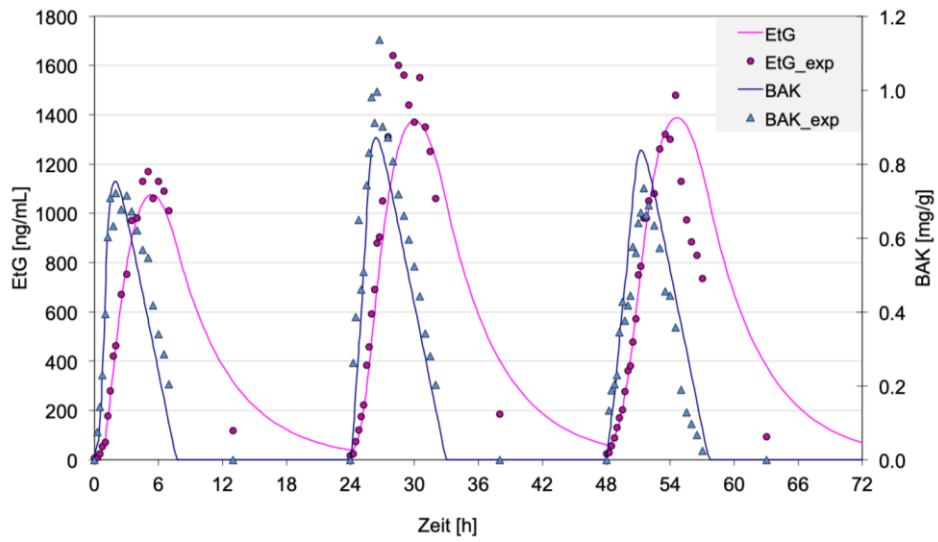
Die nachfolgenden Abbildungen veranschaulichen den Verlauf der im Trinkversuch gemessenen BAK- und EtG-Konzentrationen im gesamten Beobachtungszeitraum unter Minimierung der Fehlerquadratsumme für alle drei Versuchstage, individuell je Teilnehmenden, ansteigend geordnet nach ProbandInnencode. Die Punkte im bivariaten Streudiagramm repräsentieren die im Trinkversuch tatsächlich gemessenen BAK- und EtG-Konzentrationen (BAK\_exp und EtG\_exp), während die entsprechenden Funktionslinien den wahrscheinlichsten Verlauf der Konzentrationen aller drei Versuchstage anzeigen.



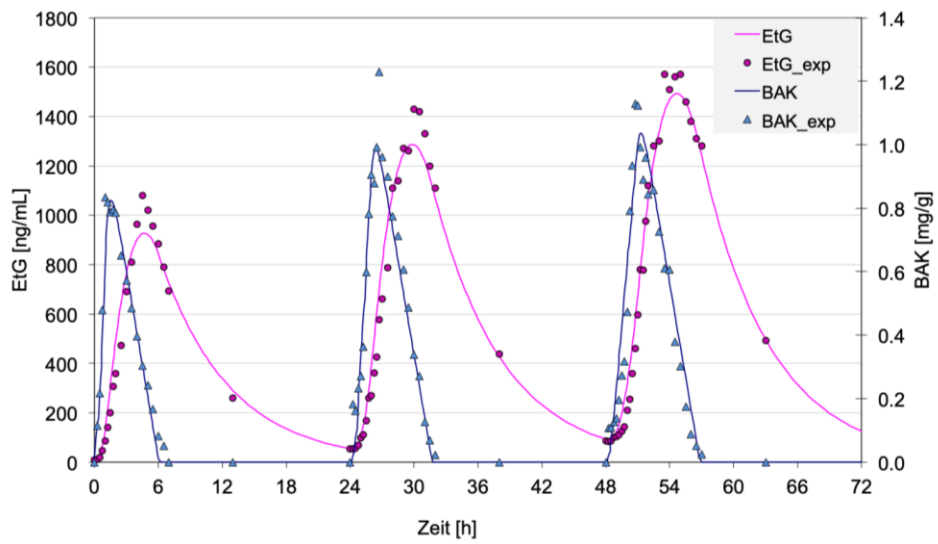
2M



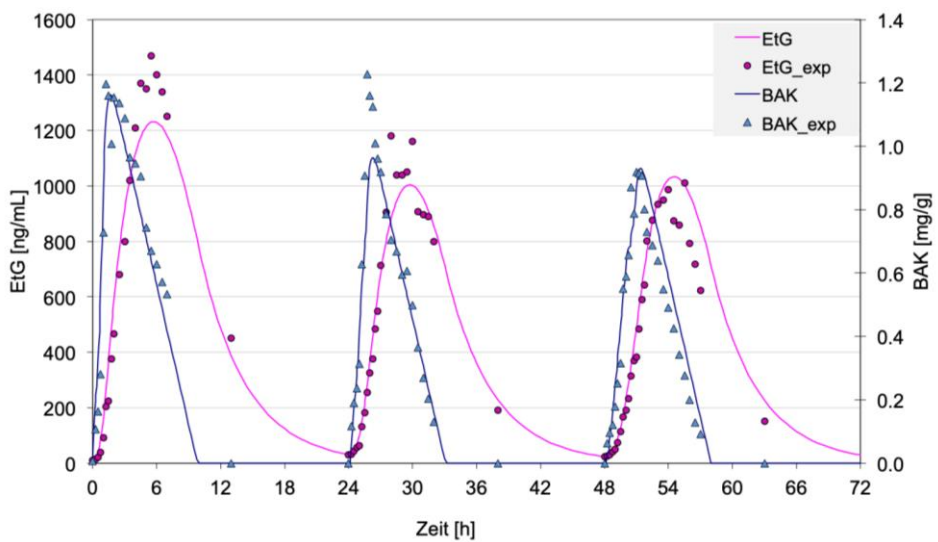
3W



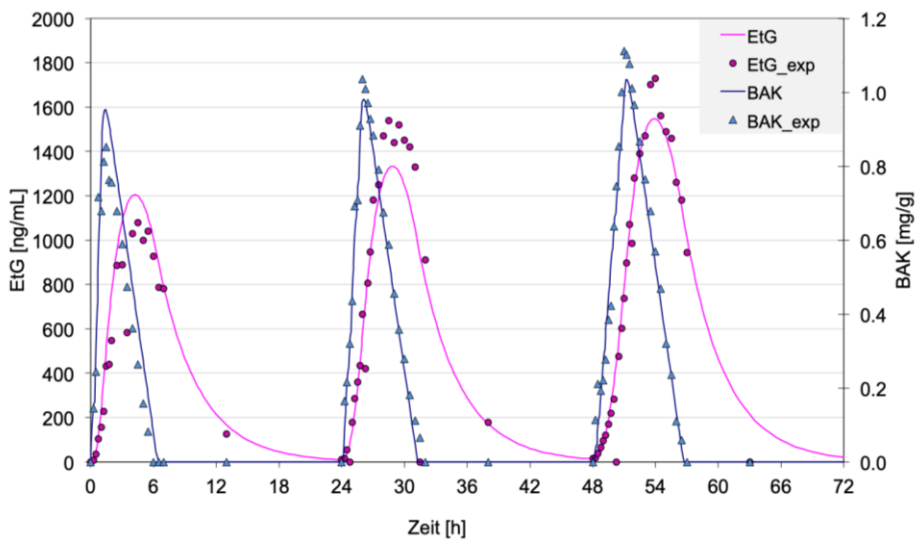
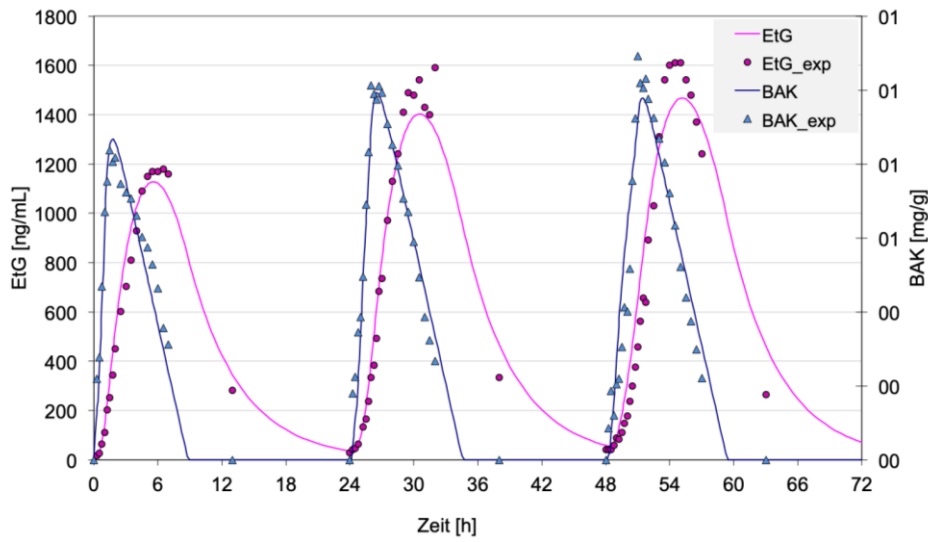
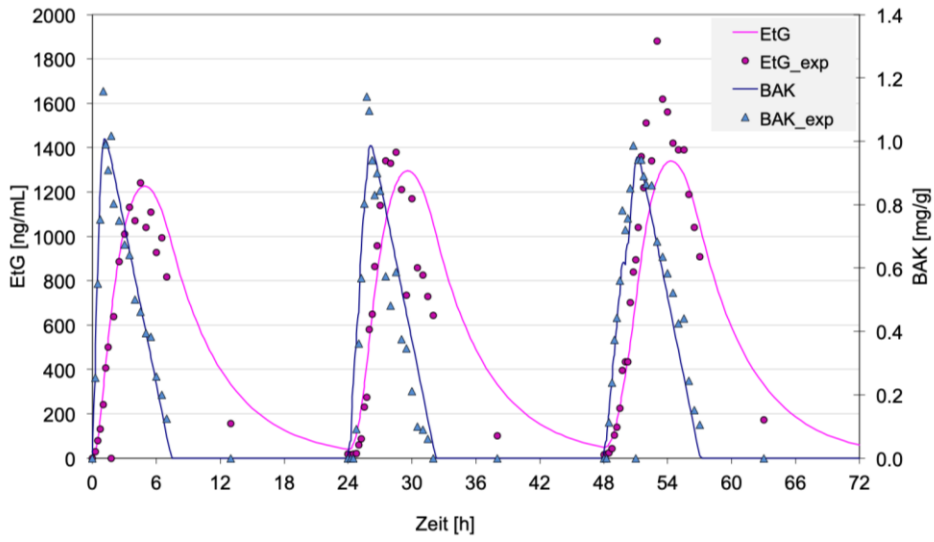
4M

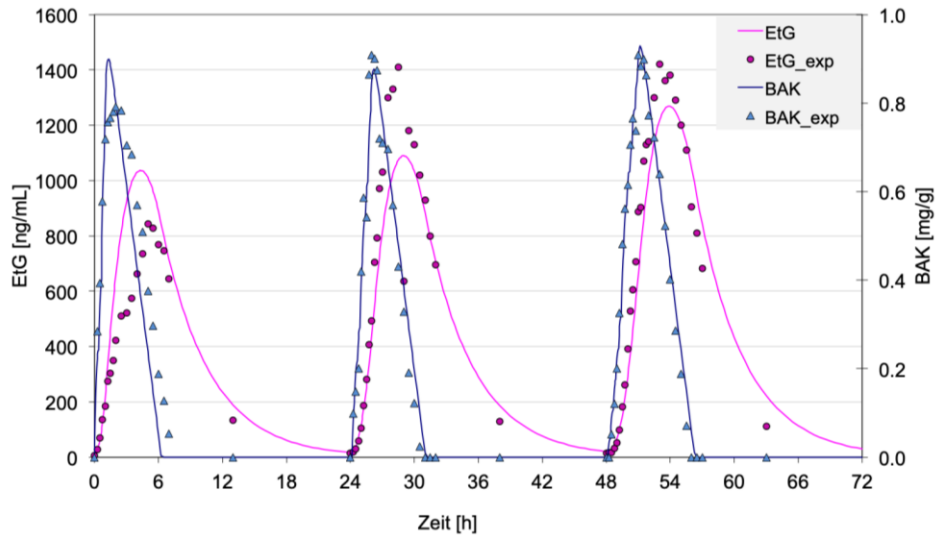


5W

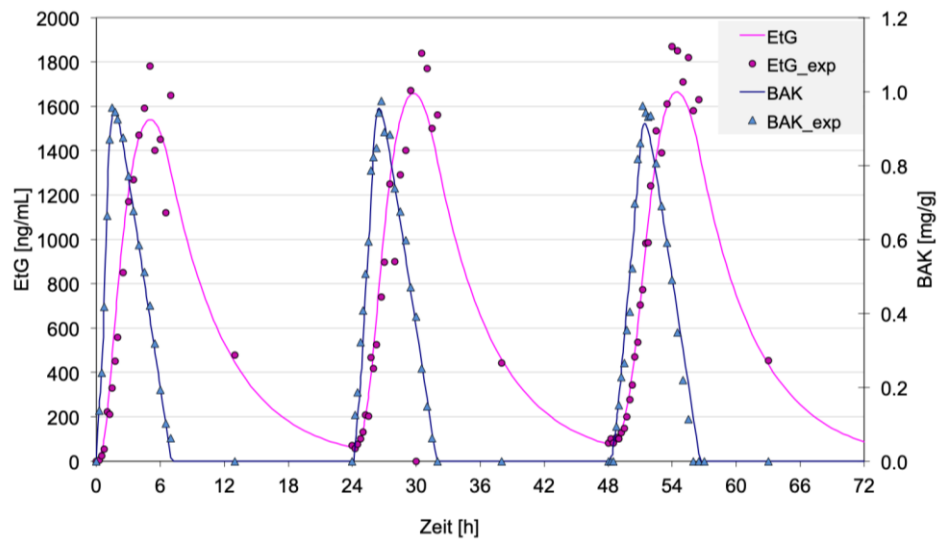


6M

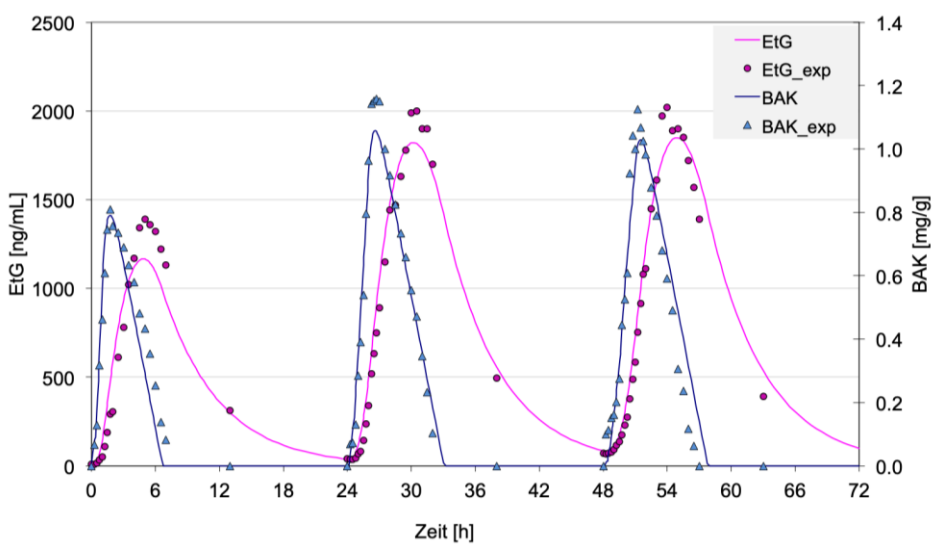




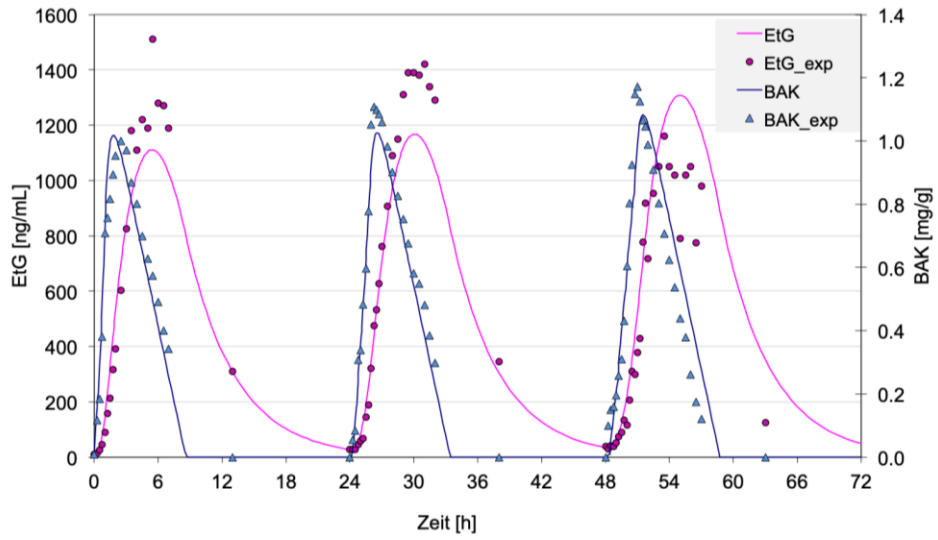
10W



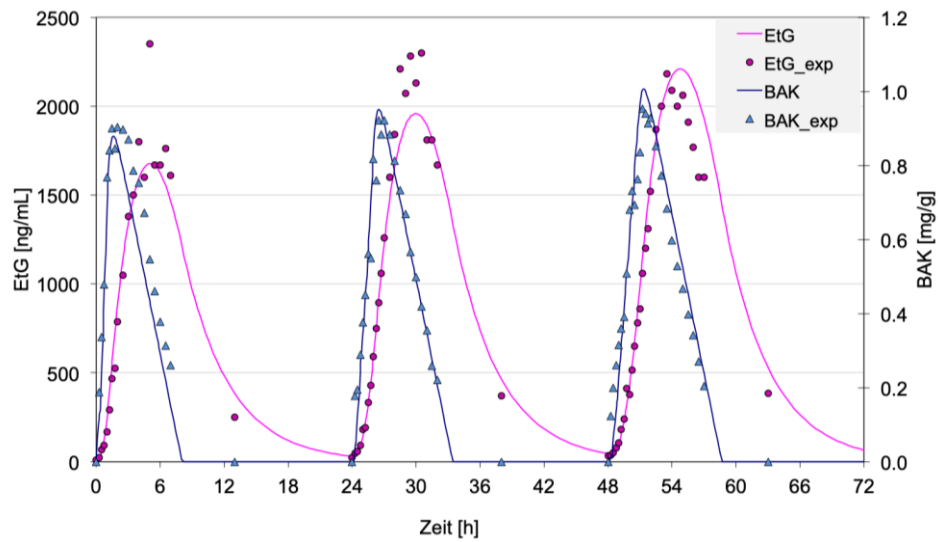
11W



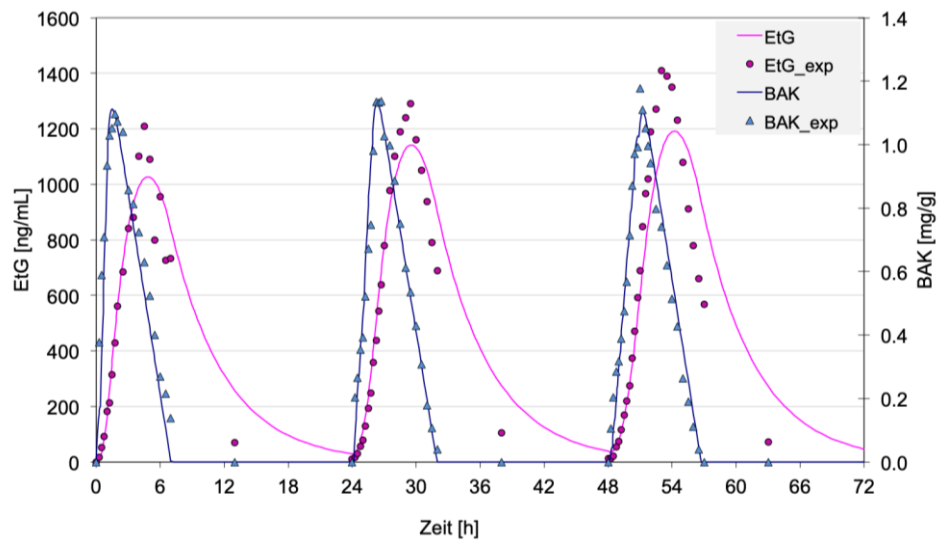
12W



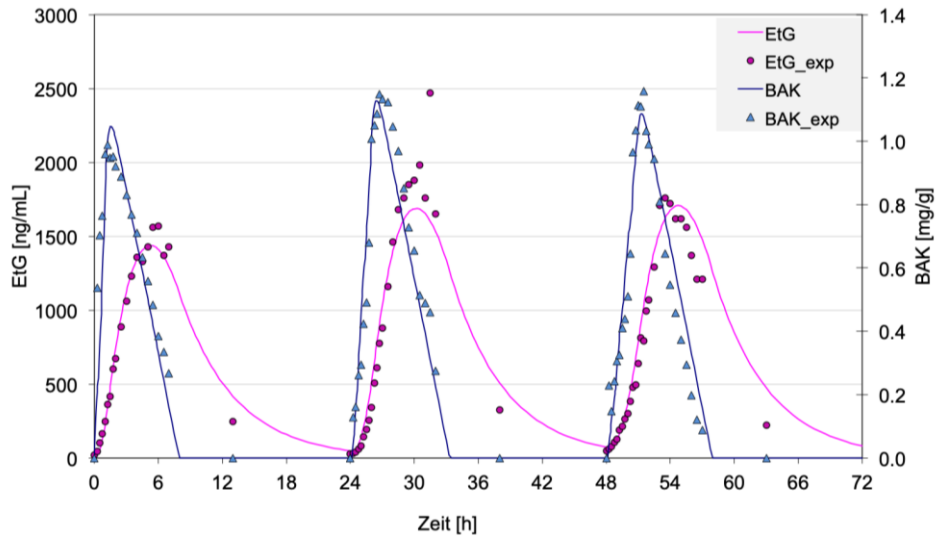
13M



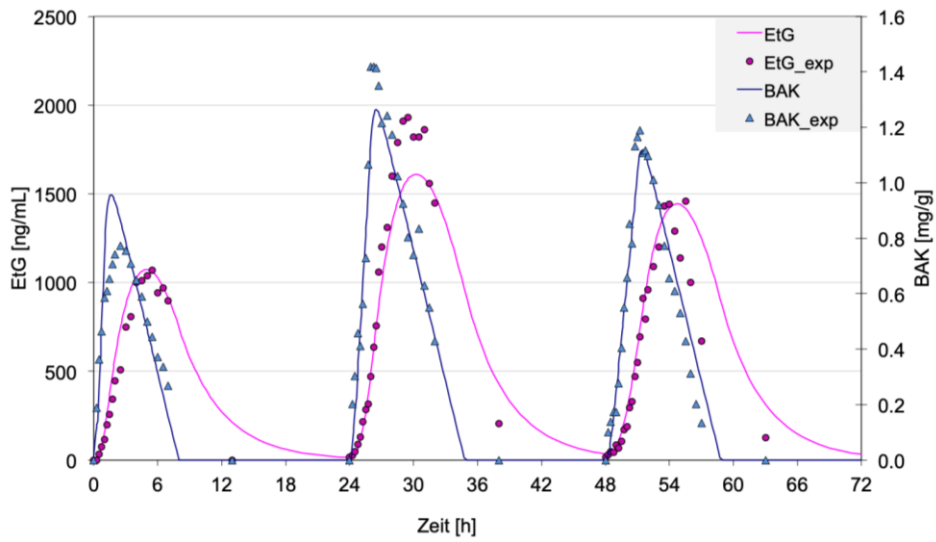
14M



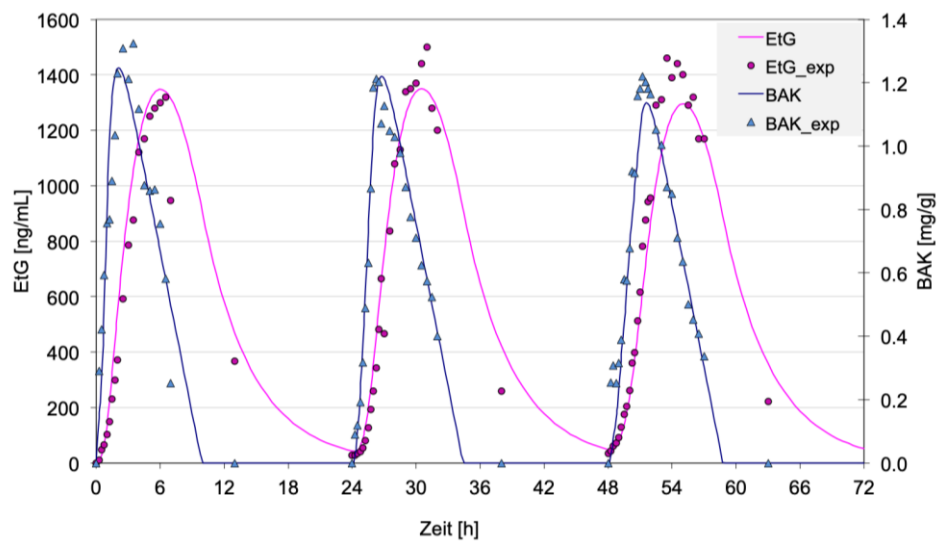
15W



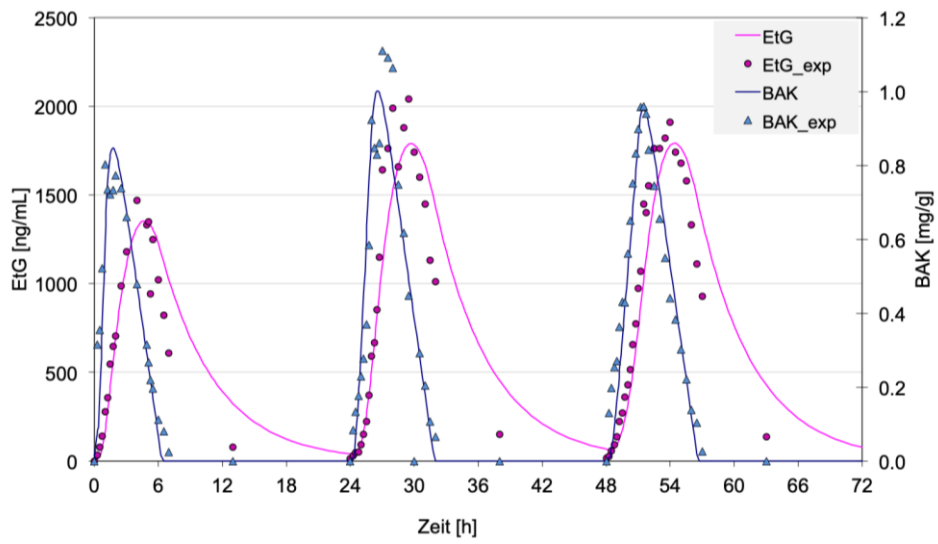
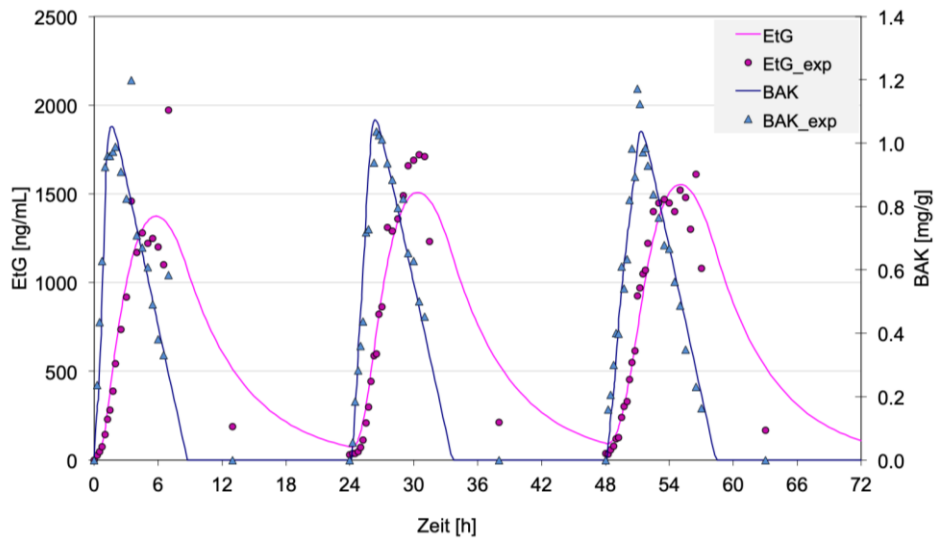
16M



17W



18M



## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Promotionsarbeit unterstützt haben.

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Graw sowie meinem Betreuer Herrn Andreas Stoever für seine jahrelange Unterstützung, Bemühungen und seine wertvollen Hinweise und Anregungen zur Umsetzung der gesamten Arbeit. Bedanken möchte ich mich ebenso bei Frau Dr. Stadler für ihre Unterstützung an den Versuchstagen und die ärztliche Mitbetreuung.

Ich bedanke mich ganz besonders bei den Kollegen meiner Doktorandengruppe Herrn Markus Fichtl und Frau Nicole Richter für unser gutes teamwork, die gegenseitige Motivation und disziplinierte Arbeit, aber auch die zahlreichen lustigen Momente während der Versuchstage und der anschließenden Probenaufbearbeitung im Labor.

Bei dieser Gelegenheit bedanke ich mich bei den MitarbeiterInnen des Instituts für Dopinganalytik und Sportbiochemie Dresden für die Bereitstellung der EtG-Daten, im Besonderen bei Herrn Dr. Detlef Thieme für unsere zahlreichen produktiven Gespräche und Diskussionen zur Lösung etwaiger Stolpersteine sowie seine konstruktiven und wertvollen Vorschläge, welche mich im Rahmen des Auswertungsprozesses immer wieder zu neuen Ideen inspiriert haben.

Danken möchte ich auch ausdrücklich besonderen Freunden, die mich während des Studiums und vor allem in den letzten Jahren mit ihren lieben Worten moralisch unterstützt und auf meinem Weg begleitet haben und mir somit Kraft und Motivation gegeben haben, meine Dissertation zu vollenden.

Mein tief empfundener Dank gilt zu guter Letzt vor allem meiner Familie: meiner Schwester Stefanie, die mir immer eine unersetzliche emotionale Stütze war, jederzeit für mich da ist und mir in meinem Leben durch ihre immerwährende Einfühlsamkeit und Anteilnahme Kraft und Mut schenkt; meinen Eltern Ingrid und Klaus, die mich finanziell unterstützt und mir das Medizinstudium in München ermöglicht haben, die mich stets ermutigt und mir gut zugesprochen haben und mit viel Geduld und Nachsichtigkeit immer wieder unterstützende Worte für mich fanden. Dafür bin ich euch ewig dankbar.

Ich danke euch