

Aus der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Konzentration von Alkohol-Biomarkern im Haar in Korrelation  
zur aufgenommenen Alkoholmenge in drei Monaten bei  
Patienten mit schweren Lebererkrankungen

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Lucia Jahn-Otto

aus Bochum

Datum der Promotion: 05.03.2021

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>5</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>5</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>8</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>9</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>10</b>
1.1 Alkoholkrankheit .....	10
1.1.1 Definition .....	10
1.1.2 Epidemiologie .....	11
1.1.3 Verlauf und Folgen .....	11
1.2 Alkoholtoxische Leberschäden .....	12
1.2.1 Definition .....	12
1.2.2 Epidemiologie .....	13
1.2.3 Therapie .....	13
1.3 Lebertransplantation .....	13
1.4 Lebertransplantation bei alkoholischer Leberzirrhose .....	14
1.4.1 Rechtliche Grundlagen zur Lebertransplantation bei einer alkoholischen Leberzirrhose .....	15
1.4.2 Ergebnisse und Prognose nach einer Lebertransplantation.....	15
1.5 Abstinenzprüfung .....	16
1.5.1 Klinische Interviews und Fragebögen .....	16
1.5.1.1 AUDIT-Fragebogen.....	16
1.5.2 Alkoholmarker im Blut .....	17
1.5.2.1 Indirekte Alkoholmarker im Blut.....	17
1.5.2.2 Direkte Alkoholmarker im Blut.....	19
1.6 Alkoholmarker EtG und FSEE .....	20
1.6.1 Ethylglucuronid (EtG).....	20
1.6.1.1 Entstehung und Einlagerung im Haar .....	20
1.6.1.2 EtG im Urin .....	21
1.6.2 Fettsäureethylester (FSEE).....	22
1.6.2.1 Entstehung und Einlagerung im Haar .....	22
1.7 Ziele und Fragestellungen der vorliegenden Studie .....	23
1.8 Hypothesen .....	24
<b>2 PATIENTEN UND METHODEN</b> .....	<b>24</b>
2.1 Patientenauswahl .....	25

2.1.1	Einschlusskriterien .....	25
2.1.2	Ausschlusskriterien .....	25
2.1.3	Datenschutz .....	25
2.2	Untersuchungsmethoden.....	26
2.2.1	Aufbau des Dokumentationsbogens.....	26
2.2.2	Schweregrad der Lebererkrankung.....	26
2.2.3	Alkoholkonsum .....	26
2.2.4	AUDIT-Fragebogen .....	26
2.3	Probenmaterial .....	27
2.3.1	Laborchemische Diagnostik.....	27
2.3.2	Haarprobengewinnung.....	27
2.3.3	Analytischer Nachweis und Bestimmung von EtG im Haar .....	27
2.3.4	Analytischer Nachweis und Bestimmung der FSEE im Haar .....	28
2.4	Statistische Datenauswertung .....	28
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>29</b>
3.1	Beschreibung des Studienkollektivs .....	29
3.2	Ergebnisse der Haaranalyse .....	33
3.2.1	Wahl der Cut-off Werte.....	33
3.2.2	Nachweis von EtG im Haar .....	34
3.2.3	Nachweis von FSEE im Haar.....	36
3.2.4	Vergleich der EtG- mit der FSEE-Konzentration im Haar.....	39
3.3	Beschreibung der Testgüte anhand der ROC-Analyse .....	40
3.4	Lebertransplantation und Outcome .....	41
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>42</b>
4.1	Kombinierte Interpretation von FSEE und EtG .....	43
4.1.1	Einlagerungsmechanismus und Stabilität von FSEE und EtG im Haar.....	43
4.1.2	Wahl der Cut-off-Werte für FSEE und EtG.....	44
4.1.3	Korrelation zwischen der nachgewiesenen EtG- und FSEE- Konzentration ....	45
4.2	Alkoholbiomarker im Haar bei eingeschränkter Nierenfunktion .....	45
4.3	Korrelation zwischen dem Alkoholkonsum der letzten 90 Tage und EtG im Haar....	46
4.4	Lebertransplantation und alkoholische Lebererkrankung .....	46
4.5	Alkoholbiomarker im Haar und Lebertransplantation .....	47
4.6	Methodendiskussion .....	47
4.6.1	Selbstangaben zum vorherigen Alkoholkonsum .....	47
4.6.2	Verwendung von Haaren anderer Körperstellen .....	48
4.6.3	Standardisierung der Untersuchungen von unterschiedlichen Haarlängen.....	48

4.6.4 Haarpflegegewohnheiten .....	49
4.6.5 Alkoholbiomarker und Körpergewicht.....	49
<b>5 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>50</b>
<b>6 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>53</b>
<b>7 ANHANG.....</b>	<b>58</b>
7.1 AUDIT-Fragebogen.....	58
<b>8 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG .....</b>	<b>60</b>
<b>9 ANTEILSERKLÄRUNG AN ETWAIGEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN .....</b>	<b>61</b>
<b>10 LEBENS LAUF .....</b>	<b>62</b>
<b>11 PUBLIKATIONS LISTE .....</b>	<b>63</b>
<b>12 DANKSAGUNG .....</b>	<b>63</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chemische Struktur von Ethylglucuronid .....	21
Abbildung 2: Ätiologie der Lebererkrankung der untersuchten Studienpopulation, N=25 .....	30
Abbildung 3: Boxplot zum Vergleich des MELD-Scores bei Patienten ohne (N=14) und mit Alkoholkonsum (N=11) innerhalb der letzten 90 Tage .....	32
Abbildung 4: Boxplot zum Vergleich der AUDIT Punktzahl bei Patienten ohne (N=14) und mit Alkoholkonsum (N=11) innerhalb der letzten 90 Tage .....	33
Abbildung 5: Verteilung der EtG-Konzentration in den 25 Haarproben.....	34
Abbildung 6: Verteilung der FSEE Konzentration in 25 Haarproben.....	37
Abbildung 7: ROC-Analyse.....	40

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vergleich der Patientengruppen mit und ohne Alkoholkonsum innerhalb der letzten 90 Tage. aT-test, bChi-Quadrat-Test, c Mann-Whitney-U-Test.....	30
Tabelle 2: Cut-off-Werte cEtG und cFSEE.....	34
Tabelle 3: Darstellung der Ergebnisse von EtG bei einem Cut-off Wert von 7pg/mg ....	35
Tabelle 4: Darstellung der Ergebnisse von EtG bei einem Cut-off Wert von 30pg/mg ...	35
Tabelle 5: Korrelation n. Spearman für die EtG Konzentration und die konsumierte Alkoholmenge der zurückliegenden 14, 28, 56, und 90 Tage nach logarithmischer Transformation .....	35
Tabelle 6: Lineare Regression mit der abhängigen Variable a) logFSEE bzw. b) logEtG, der unabhängigen Variable log90D und dem MELD-Score als Kovariate .....	36
Tabelle 7: Darstellung der Ergebnisse von FSEE bei einem Cut-off Wert von 0,2 ng/mg .....	37
Tabelle 8: Darstellung der Ergebnisse von FSEE bei einem Cut-off von 0,5 ng/mg .....	37
Tabelle 9: Spearman Korrelationsquotient für die FSEE-Konzentration und die konsumierte Alkoholmenge der zurückliegenden 14, 28, 56, und 90 Tage.....	38
Tabelle 10:Lineare Regression mit der abhängigen Variable a) logEtG bzw. b) logFSEE, der unabhängigen Variable log28D bzw. log56 und dem MELD-Score als Kovariate .....	39
Tabelle 11:Verteilung der EtG- und FSEE-Konzentrationen in den untersuchten Haarproben .....	39

Tabelle 12: ROC-Analyse mit Darstellung der Spezifität und Sensitivität bei unterschiedlichen Cut-off-Werten .....	40
Tabelle 13: Zusammenhang zwischen der EtG- und der FSEE-Konzentration im Haar und den gewählten Cut-off-Werten .....	41
Tabelle 14: Zusammenhang zwischen der EtG- und FSEE-Konzentration im Haar und einer anschließenden Lebertransplantation.....	41

## Abkürzungsverzeichnis

ADH	Alkoholdehydrogenase
ALC	Alkoholische Leberzirrhose (alcoholic liver cirrhosis)
ALD	Alcoholic Liver Disease
ALE	Alkoholische Lebererkrankung
BAK	Blut-Alkohol-Konzentration
BÄK	Bundesärztekammer
CDT	Carbodeficient Transferrin
EtG	Ethyl-Glukuronid
GDH	Glutamat-Dehydrogenase
$\gamma$ -GT / GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalazetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBV	Hepatitis B-Virus
HCV	Hepatitis C-Virus
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HWZ	Halbwertszeit
LC-ESI-MS-MS	Liquid chromatography electrospray ionisation tandem mass spectrometry
LTx	Lebertransplantation
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen (mean corpuscular volume)
MELD	Model of Endstage Liver Disease - Score
NALD	Nicht-alkoholische Lebererkrankung (non alcoholic liver disease)
PBC	Primär biliäre Zirrhose
SA	Selbstauskunft
Tx	Transplantation
WL	Warteliste

## Abstrakt

**Einleitung:** Die Abstinenzprüfung der Patienten mit schwerer Lebererkrankung vor Lebertransplantation ist durch das Fehlen geeigneter Biomarker erschwert. Die Alkoholabstinenz vor Transplantation wird für gewöhnlich durch Befragung des Patienten und Laborparameter wie GGT und CDT überprüft. Die Alkoholbiomarker Ethylglucuronid und Fettsäureethylester im Haar zeigten in Validierungsstudien vielversprechende Ergebnisse (Appenzeller et al. 2007, Pragst 2008). Bislang wurden diese Biomarker allerdings nicht bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung untersucht.

**Ziel:** Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung der Korrelation zwischen der Konzentration der Alkoholmarker FSEE und EtG im Haar und der aufgenommenen Alkoholmenge der vorangegangenen 3 Monate vor der Probenentnahme bei leberkranken Patienten. Es wird geprüft, ob die Alkoholmarker im Haar als zuverlässige diagnostische Marker für den vorangegangenen Alkoholkonsum von Patienten mit Lebererkrankungen verwendet werden können, um den Alkoholkonsum von Transplantationspatienten besser erfassen zu können.

**Methoden:** Für die Haaranalyse wurden zwei Haarsträhnen entnommen und im Institut für Gerichtsmedizin der Charité-Universitätsmedizin Berlin nach den von Pragst et al. 2001 und Yegles et al. 2004 beschriebenen Methoden analysiert. Die konsumierte Alkoholmenge (in Gramm reinen Alkohol) wurde mit Hilfe der „Timeline follow back“ Methode für die vergangenen 90 Tage ermittelt (Sobell et al. 2003). Laborwerte zur Ermittlung des MELD Score wurden der Patientenakte entnommen (Goldmann et al. 2011).

**Statistische Auswertung:** Zur Überprüfung des Zusammenhanges zwischen der in den letzten 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge und der Konzentration der Biomarker im Haar wurde eine Korrelation nach Spearman durchgeführt. Der Korrelationskoeffizient wurde jeweils für die EtG- und FSEE-Konzentration für die zurückliegenden 14, 28, 56 und 90 Tage ermittelt. Zudem wurde eine lineare Regression mit den logarithmierten EtG und FSEE-Werten sowie der logarithmierten Alkoholmenge der letzten 28 bzw. 90 Tage durchgeführt. Zur Beurteilung bestmöglicher Cut-off-Werte wurde eine ROC-Analyse durchgeführt.

**Ergebnisse:** Insgesamt wurden 25 Patienten (19 Männer und 6 Frauen) mit fortgeschrittener Leberzirrhose (Mittlerer MELD-Score von  $14,5 \pm 5,1$ ) / Median 14 (10,5-18,5) eingeschlossen. Es wurden sowohl Patienten mit alkoholischer (N=11) als auch nicht-alkoholischer (N=14) Lebererkrankung eingeschlossen. Die EtG Konzentration im Haar korreliert am stärksten mit der in den vergangenen 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge, während die FSEE Konzentration am stärksten mit der Alkoholmenge nach 56 Tagen korrelierte. Die lineare Regression zeigte vergleichbare Resultate (Goldmann et al. 2011).

**Schlussfolgerung:** Die Messung der EtG-Konzentration im Haar von Patienten mit schwerer Lebererkrankung stellt eine gute Möglichkeit der Überwachung der langfristigen Alkoholaufnahme (der letzten 90 Tage) dar. Die Messung der FSEE-Konzentration korreliert dagegen besser mit der Alkoholaufnahme über einen kürzeren Zeitraum, insgesamt aber schlechter im Vergleich zu EtG. Bei kleinem Studienkollektiv sind weitere Studien zur Prüfung der Zusammenhänge sinnvoll.

## Abstract

**Introduction:** Alcoholic liver disease is a common indication for liver transplantation. Monitoring of alcohol abstinence is usually done by patient self-reports and biomarkers like GGT and CDT which are quite unspecific. New alcohol biomarkers in hair (Ethylglucuronide, EtG and fatty acid ethyl esters, FSEE) showed promising results in previous studies (Appenzeller et al. 2007, Pragst 2008). However these biomarkers were not yet evaluated in patients with liver cirrhosis.

It is being examined whether the alcohol markers in hair can be used as reliable diagnostic markers for patients with liver disease in order to record the alcohol consumption before liver transplantation.

**Methods:** Patients were asked to provide a hair sample for EtG and FSEE analysis. Two strands of hair were removed and analysed in the Institute of Forensic Medicine of the Charité-Universitätsmedizin Berlin according to the methods described by Pragst et al. 2001 and Yegles et al. 2004.

Alcohol consumption in grams ethanol was assessed using the timeline follow back method for the preceding 90 days (Sobell et al. 2003). Laboratory parameters for MELD score calculation were taken from the recent patient's records.

Statistical analysis: Spearman correlation coefficient was calculated for EtG-concentration and alcohol intake (different time horizons of previous 14, 28, 56 and 90 days) and FAEE-concentration respectively. Furthermore lineal Regression adjusted for MELD score was performed. A ROC analysis was performed to assess the best possible cut-off values.

**Results:** In total 25 patients (19 male and 6 female) with severe liver cirrhosis (mean MELD score of 14.5 +/- 5.1) were enrolled. Liver disease was alcoholic as well as non-alcoholic. 11 of these patients were current drinkers according to their self-report of drinking behaviour in the preceding 90 days.

EtG concentration in hair correlated best with the previous 90 days alcohol consumption while FAEE concentration correlated the best with 56 days alcohol consumption. The linear regression showed a similar result.

**Conclusion:** Measuring EtG concentration in hair of patients with severe liver disease seems to be a good monitoring parameter of long term alcohol consumption (i.e. 90 days). FAEE seems to correlate better in shorter time horizon compared to EtG. However, a higher number of patients is needed to confirm these results.

# 1 Einleitung

Alkohol ist die weltweit am weitesten verbreitete psychoaktive Substanz und ist der dritthäufigste Grund für gesundheitliche Schädigungen und einen vorzeitigen Tod (Jain AB. et al. 2003). Ein Großteil der Gesellschaft steht dem Alkoholkonsum mit einer unkritisch positiven Einstellung gegenüber. Im Jahr 2017 wurde in Deutschland durchschnittlich 10,5 Liter reiner Alkohol pro Einwohner/in über 15 Jahren konsumiert (John et al. 2020). Im Vergleich zum Vorjahr sind die Zahlen zwar rückläufig, jedoch liegt Deutschland im internationalen Vergleich im oberen Zehntel der Rangliste. Die volkswirtschaftlichen Kosten durch Alkoholkrankheit und alkoholassoziierte Erkrankungen beliefen sich in Deutschland für das Jahr 2002 auf rund 24,398 Mio. Euro (Konnopka A., 2007).

## 1.1 Alkoholkrankheit

### 1.1.1 Definition

Die Alkoholkrankheit ist als regelmäßiges und übermäßiges periodisches Trinken von Alkohol und dadurch hervorgerufene chronische Krankheiten definiert. Bereits durch regelmäßigen Konsum von kleinen Mengen Alkohol kann sich eine beginnende Alkoholkrankheit äußern. Die Betroffenen sind sich der Schwere ihrer Krankheit oft nicht bewusst, häufig wird die Suchtproblematik verleugnet. Nach ICD 10-Klassifizierung wird zwischen schädlichem Gebrauch [F10.1] und Abhängigkeit [F10.2] unterschieden.

Schädlicher Gebrauch liegt vor, wenn der Alkoholkonsum zu körperlichen, psychischen oder sozialen Schaden führt, ohne dass die Kriterien für eine Abhängigkeit vorliegen.

Ein Abhängigkeitssyndrom besteht, wenn mindestens 3 der unten genannten Kriterien erfüllt sind:

- starker Zwang oder Wunsch, Alkohol zu konsumieren
- verminderte Kontrollfähigkeit über Steuerung des Alkoholkonsums
- körperliches Entzugssyndrom bei Reduktion oder Beendigung des Alkoholkonsums und Alkoholkonsum um Entzugssymptome zu mildern
- Dosissteigerungen durch Toleranzentwicklung
- zu Gunsten des Alkoholkonsums werden andere Interessen vernachlässigt

- anhaltender Alkoholkonsum trotz Nachweis schädlicher gesundheitlicher, psychischer oder sozialer Folgen
- Alkoholkonsum zu unpassenden Zeiten und Gelegenheiten (z.B. am Arbeitsplatz)
- Alkoholkonsum ohne Rücksicht auf soziale Auswirkungen

(Hasin et al., 2006; Herold G. 2012)

### 1.1.2 Epidemiologie

Etwa 3% der deutschen Bevölkerung sind alkoholabhängig, bei circa 5% liegt ein Alkoholmissbrauch vor. 9,5 Millionen Menschen in Deutschland konsumieren regelmäßig Alkohol in einer gesundheitlich riskanten Menge. Für Frauen gelten > 20 g reiner Alkohol und für Männer > 30 g reiner Alkohol pro Tag als gesundheitsschädlich. Das Geschlechterverhältnis scheint sich anzugleichen, wobei aktuell noch der Anteil der Männer überwiegt. Die Zahl der Alkoholabhängigen in Deutschland lag nach Schätzungen im Jahr 2009 bei 1,3 Millionen.

(Drogen-Suchtbericht 2009 und 2011, Herausgeber: Die Drogenbeauftragte der Bundesregierung, Bundesministerium für Gesundheit, 11055 Berlin)

### 1.1.3 Verlauf und Folgen

Zu den gesundheitlichen Folgeschäden durch übermäßigen Alkoholkonsum zählen unter anderem folgende Erkrankungen: Magenschleimhaut- und Bauchspeicheldrüsenentzündungen, Diabetes mellitus, Speiseröhrenkrebs, Polyneuropathie, Immunschwäche, Kardiomyopathien, Kleinhirnatrophie, epileptische Anfälle und psychische Störungen. Eine der häufigsten und schwersten Folgeerkrankungen stellt allerdings die äthyltoxische Lebererkrankung (Alcoholic liver disease, ALD) dar. Ohne Therapie und lebenslanger Alkoholabstinenz ist die Prognose schlecht, die durchschnittliche Lebenserwartung verkürzt sich um etwa 15 Jahre.

## 1.2 Alkoholtoxische Leberschäden

### 1.2.1 Definition

Die alkoholischen Leberschäden lassen sich in 3 Stadien einteilen:

Langfristiger übermäßiger Alkoholkonsum kann zu einer alkoholischen Fettleber, **Steatosis hepatis**, führen. Die Leber ist in vielen Fällen vergrößert, die Patienten sind oft beschwerdefrei und es liegen keine pathologischen Leberfunktionstests vor.

Die **alkoholische Steatohepatitis** stellt das 2. Stadium der ALD dar. Bei einer Fettleber mit akut entzündlicher Reaktion lassen sich im Großteil der Fälle folgende dauerhafte histomorphologische Veränderungen feststellen: Es zeigen sich wabig angeordnete Leberzellen, intrazellulär gelegenes alkoholisches Hyalin (Mallory-Bodies), Granulozyten umgeben von nekrotischen Hepatozyten und Maschendrahtfibrose mit entzündlich infiltrierten Portalfeldern. Häufig kommt es zu einer Zunahme des Bindegewebes und zu Residuen in Form von Fibrose. Das klinische Bild ist variabel, unter anderem können Ikterus, Fieber und eine Leukozytose auftreten. Das Zieve-Syndrom wird als eine Kombination aus alkoholischer Fettleber, Cholestase, Hämolyse und Hyperlipidämie beschrieben. Bei andauerndem regelmäßigem Alkoholkonsum in diesem Erkrankungsstadium entwickeln 30% der Patienten eine Leberzirrhose.

Die **mikronoduläre Leberzirrhose** stellt das Endstadium der ALD dar.

Morphologisch lässt sich eine Transformation der Leberarchitektur in Form von einer Zerstörung der Läppchen- und Gefäßstruktur beobachten. Durch die entzündliche Fibrose findet eine Ausbildung bindegewebiger Septen und eine narbig-knotige Regeneratbildung statt. Bei kontinuierlichem Alkoholkonsum können die chronisch entzündlichen Vorgänge zu einer Verschlechterung der hepatischen Funktion und zur portalen Hypertension führen. Folgen der Leberzirrhose sind in 25-40% der Fälle eine Leberinsuffizienz, Aszites, Peritonitis, hepatische Enzephalopathie und das hepatische Koma (Herold G. 2012). Auf Grund der portalen Hypertension besteht durch die Ausbildung von portocavalen Anastomosen eine erhöhte Blutungsgefahr, 20-30% der Patienten mit alkoholischer Leberzirrhose bilden Ösophagusvarizen aus (Herold G. 2012). Es besteht ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entstehung eines

hepatozellulären Karzinoms, vor allem bei einem gleichzeitigen Vorliegen einer HBV-/HCV-Infektion (Böcker et. al, 2008; Poynard et. al, 1991).

### 1.2.2 Epidemiologie

In Deutschland sind etwa ein Drittel aller Lebererkrankungen durch übermäßigen Alkoholkonsum bedingt. Unter der alkoholinduzierten Lebererkrankung leiden 5-10 % der Bevölkerung Westeuropas. In Deutschland sterben jährlich etwa 73.000 Menschen an den Folgen von übermäßigem Alkoholkonsum, wobei die häufigste Todesursache die Folgen der Leberzirrhose darstellt. Bei einem übermäßigen chronischen Alkoholkonsum sinkt die durchschnittliche Lebenserwartung um 10 bis 12 Jahre.

(Drogen-Suchtbericht 2009 und 2011, Herausgeber: Die Drogenbeauftragte der Bundesregierung, Bundesministerium für Gesundheit, 11055 Berlin)

### 1.2.3 Therapie

Neben absoluter Alkoholkarenz erfolgt die Therapie der ADL symptomatisch. Es werden entstandene Komplikationen wie Ösophagusvarizen, gastrointestinale Blutungen, Aszites oder hepatische Enzephalopathie behandelt. Eine kurative Therapie ist nicht möglich. Im Endstadium der Leberzirrhose stellt die orthotope Lebertransplantation die letzte Therapieoption dar.

## 1.3 Lebertransplantation

Im Jahre 1967 wurde die weltweit erste erfolgreiche Lebertransplantation von Thomas E. Starzl in Pittsburgh, Pennsylvania durchgeführt. Zwei Jahre später erfolgte die erste Lebertransplantation in Deutschland an der Universitätsklinik Bonn durch Alfred Gütgemann und Tschong-Su Lie. In Deutschland wurden im Jahr 2019 insgesamt 831 Lebertransplantationen, davon 776 nach postmortalen Organspende und 54 nach einer Lebendspende durchgeführt. Die Anzahl der Neuanmeldungen auf der Warteliste der deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) ist hoch, da viel mehr Patienten eine Lebertransplantation benötigen als Organe zur Verfügung stehen. 2019 wurden 1385 Patienten zur Lebertransplantation angemeldet (DSO,2019).

Die Indikation zur Lebertransplantation ist gegeben, wenn der Patient unter einer lebensbedrohlichen progressiven chronischen Lebererkrankung leidet. Zu diesen Erkrankungen zählen unter anderem die fortgeschrittene Leberzirrhose, cholestatische

Lebererkrankungen, genetische und metabolische Erkrankungen, akutes Leberversagen sowie bösartige Tumoren der Leber. Die häufigste Diagnose bei Neuanmeldung zur Lebertransplantation stellte im Jahr 2019 die fibrotische Leberzirrhose dar. Die zweithäufigste Diagnose war die alkoholische Leberzirrhose gefolgt von bösartigen Neubildungen der Leber und der Gallengänge (DSO, 2019).

Um auf die Warteliste der DSO aufgenommen zu werden sind folgende Kontraindikationen auszuschließen:

- nicht kurativ behandelbare extrahepatische Krankheiten
- klinisch manifeste extrahepatische Infektionskrankheiten
- HIV-Infektion
- schwerwiegende Erkrankungen anderer Organe welche ein vitales Risiko bei der Transplantationsoperation darstellen oder den langfristigen Transplantationserfolg gefährden

(DSO, 2012)

#### **1.4 Lebertransplantation bei alkoholischer Leberzirrhose**

Die alkoholinduzierte Leberschädigung zählt in Europa und den USA zu den häufigsten Gründen für eine Lebertransplantation (Roberts et al 2004; O'Grady, 2006). Um für eine Transplantation zugelassen zu werden ist für Patienten mit einer äthyltoxischen Leberzirrhose üblicherweise eine absolute Alkoholkarenz von 6 Monaten erforderlich. Diese 6-Monatsregel wird von der Bundesärztekammer in den Leitlinien zur Transplantation aufgeführt und dient als Einschlusskriterium für eine Lebertransplantation. Die Dauer dieser Abstinenzphase wird kontrovers diskutiert, aber eine Alkoholkarenz vor einer Transplantation wird immer angestrebt, da eine längere Alkoholkarenz mit einem günstigeren Trinkverhalten nach der Transplantation einhergeht und das Outcome verbessert (O'Grady, 2006; Perney et al., 2005).

### 1.4.1 Rechtliche Grundlagen zur Lebertransplantation bei einer alkoholischen Leberzirrhose

Nach den Richtlinien zur Organtransplantation nach §16 TGB der deutschen Bundesärztekammer stellt die alkoholinduzierte Leberzirrhose eine Indikation zur Lebertransplantation dar, es gelten folgenden Einschränkungen:

1. „Bei Patienten mit alkoholinduzierter Zirrhose erfolgt die Aufnahme in die Warteliste erst dann, wenn der Patient für mindestens sechs Monate völlige Alkoholabstinenz eingehalten hat.

**Krankheitseinsicht** und **Kooperationsfähigkeit** des Patienten sind erforderlich.

Abstinenzverhalten von Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose müssen einen längerfristigen Transplantationserfolg sowie eine ausreichende Compliance auch in schwierigen Situationen ermöglichen.“

2. „[...] Die behandelnden Ärzte müssen sowohl bei der Aufnahme in die Warteliste als auch nach der Transplantation auf die **Compliance** achten und auf sie hinwirken.“

### 1.4.2 Ergebnisse und Prognose nach einer Lebertransplantation

Studien zufolge ist die Länge der Abstinenzphase vor der Transplantation der stärkste beeinflussende Faktor, um das Outcome zu verbessern und die Rückfallrate zu senken (O'Grady 2006; Perney et al. 2005). In etwa 25% der Fälle treten Rückfälle in Form von regelmäßigem starken Alkoholkonsum auf, welche nicht nur das Transplantat gefährden, sondern auch die immunsuppressive Therapie durch Non-Compliance erschweren (Dimartini et al. 2006). In Anbetracht der geringen Anzahl der zur Verfügung stehenden Organe und der bestehenden Rückfallgefahr in den Alkoholkonsum und damit auch der unzureichenden Compliance nach Transplantation wurde die Frage, ob Patienten mit alkoholbedingter Lebererkrankung transplantiert werden sollten, über Jahre kontrovers diskutiert. Verschiedene Studien ergaben jedoch, dass die Überlebensrate von transplantierten Patienten mit einer alkoholbedingten Lebererkrankung vergleichbar mit der Überlebensrate von anderen transplantierten Patientengruppen ist (Lucey et al. 2009; O'Grady 2006; Roberts et al. 2004). Es lassen sich gute Prognosen und langfristige Ergebnisse für eine 10-Jahres-Überlebensrate von bis zu 80-90 % erzielen. Aus diesem Grund hat sich die alkoholtoxische Leberzirrhose an allen Transplantationszentren als Indikation zur Lebertransplantation durchgesetzt und zählt neben den posthepatischen Zirrhosen mit zu den häufigsten gestellten Indikationen für eine Lebertransplantation (Dous & Neuberger, 1998; Mc Caughan et al. 1995; O'Grady 2006). Zwar konnten bislang

keine verlässlichen Parameter ermittelt werden, um eine Aussage über die Rückfallwahrscheinlichkeit nach einer Lebertransplantation zu geben, jedoch scheinen einige Faktoren eine Tendenz aufzuzeigen. Zu diesen Faktoren zählen unter anderem der Missbrauch anderer Substanzen (Tabak, Drogen und Medikamente), psychiatrische Erkrankungen mit Psychosen, Depressionen und andere Persönlichkeitsstörungen, sowie fehlender sozialer Support (G. Pageaux et al., 1999; Watt & McCashland, 2004, DiMartini et al. 2008). Eine günstige Voraussetzung zur Lebertransplantation stellt eine erfolgreich abgeschlossene Sucht- und Psychotherapie mit einer Stabilitätsbeurteilung der sozialen Integration dar. Diese Therapien stellen einen wesentlichen Bestandteil des kompletten Transplantationsprozesses dar, da der Alkoholismus als Grundleiden therapiert wird und Risikofaktoren die die postoperative Compliance beeinflussen oder gar einen Rückfall in den Alkoholismus begünstigen, frühzeitig erkannt und therapiert werden können (Johann und Erim 2001; Webb et al. 2006; Weinrieb und Lucey, 2007).

## 1.5 Abstinenzprüfung

Es existieren verschiedene Verfahren, um die Alkoholabstinenz von Transplantationspatienten zu prüfen. Zum einen wird mit Hilfe von klinischen Interviews in einem persönlichen Gespräch das Abstinenzverhalten der Patienten erfragt. Zum anderen erfolgt die Interpretation von bestimmten Laborparametern.

### 1.5.1 Klinische Interviews und Fragebögen

Ein in der Klinik häufig genutztes Screeningtool ist der AUDIT-Fragebogen. Er kann Auskunft zum aktuellen Alkoholkonsum sowie Hinweise auf eine Störung im Gebrauch von Alkohol und Abhängigkeit geben. Im Rahmen der Evaluation vor einer Lebertransplantation erfolgt zudem eine psychiatrische Mitbegutachtung des Patienten sowie idealerweise eine psychosoziale Intervention, um die Abstinenz im weiteren Verlauf langfristig zu erhalten.

#### 1.5.1.1 AUDIT-Fragebogen

Der AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) ist ein von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) entwickelter Test zur Identifizierung von Patienten mit Störungen im Gebrauch von Alkohol. Der Fragebogen besteht aus 10 Fragen, die Auskunft über die Menge des konsumierten Alkohols, das Trinkverhalten und über

alkoholassoziierte Probleme des Befragten geben. Die ersten 3 Fragen beziehen sich auf den Alkoholkonsum, die restlichen 7 Fragen beschäftigen sich mit negativen Konsequenzen des Trinkverhaltens und alkoholassoziierten Problemen. Jede Antwortmöglichkeit ist mit einer bestimmten Anzahl von Punkten versehen, die abschließend addiert werden und den AUDIT-Score ergeben.

Es gilt folgende Einteilung, wobei die individuelle Interpretation der einzelnen Fragen berücksichtigt werden sollte:

Ein AUDIT-Score von über 8 Punkten weist auf übermäßigen und schädlichen Alkoholkonsum hin.

Bei einem AUDIT-Score von 8-15 Punkten sollte auf eine Reduzierung des Alkoholkonsums hingewiesen werden.

Bei einem AUDIT-Score von 16-19 Punkten sollte eine Suchtberatung und regelmäßige Untersuchungen angeboten werden.

Ein AUDIT-Score von mehr als 20 Punkten rechtfertigt weiterführende Diagnostik bezüglich einer Alkoholabhängigkeit (Babor et al. 2001).

### 1.5.2 Alkoholmarker im Blut

Neben den beim Abbau von Alkohol entstehenden direkten Alkoholmetaboliten kommen als potentielle Alkoholmarker auch alle messbaren physiologischen Parameter in Betracht, die im Zusammenhang mit exzessivem Alkoholkonsum typische Veränderungen zeigen.

Als Langzeitmarker für missbräuchlichen Alkoholkonsum sind unter anderem Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT), das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV), Gamma-Glutamyltranspeptidase (GGT) und andere Leberenzymaktivitäten bekannt. MCV und GGT zählen in der Diagnostik von missbräuchlichem Alkoholkonsum zu der Kategorie der State- und Langzeitmarker. Als indirekte Marker basieren sie auf pathologischen Veränderungen des Stoffwechsels bei länger anhaltendem Alkoholkonsum von > 60 g Alkohol über einen Zeitraum von 3-6 Wochen. Statemarker sind biochemische Indikatoren, die bei erhöhtem Alkoholkonsum charakteristische Werte annehmen. Noch Wochen nach Abstinenzbeginn ist es möglich, eine Veränderung der oben genannten Langzeitmarker im Blut nachzuweisen.

### 1.5.2.1 Indirekte Alkoholmarker im Blut

#### Leberenzymaktivität der Gamma-Glutamyltranspeptidase (GGT)

Eine Erhöhung der Leberenzymaktivität ist generell in erster Linie auf eine Leberzellschädigung zurückzuführen. Durch eine Schädigung der Zellwand können Zellbestandteile ins Blut gelangen und es entsteht eine Erhöhung der Leberenzymaktivität im Blut. Der Grund für eine Zellschädigung kann verschiedene Ursachen haben, z.B. Hepatitis, chronischer Alkoholkonsum oder eine andere Lebererkrankung. Im Zusammenhang mit chronischem Alkoholabusus tritt jedoch häufig eine isolierte Erhöhung des GGT-Wertes auf, welcher weniger durch eine Parenchymschädigung, als vielmehr durch die Induktion der Enzymsynthese hervorgerufen wird. Der Referenzwert für Frauen liegt bei < 40 U/l und für Männer bei < 60 U/l.

#### Mittleres korpuskuläres Volumen (MCV)

Das mittlere korpuskuläre Volumen der Erythrozyten errechnet sich wie folgt:

Hämatokrit/ Erythrozytenzahl ( $10^6/\mu\text{l}$ ) x 1000

Die Referenzwerte liegen bei Männern und Frauen zwischen 81-100 fl. Nach chronischem Alkoholkonsum ist mit einer Sensitivität von 25-90 % eine Erhöhung des MCV über 98 fl nachweisbar (Aderjan, 2000). Diese, als Makrozytose bezeichnete Veränderung entsteht in erster Linie durch die toxische Wirkung des Alkohols auf das Knochenmark, möglicherweise in Kombination mit einem alkoholbedingten Folsäuremangel. Da die Lebensdauer von Erythrozyten im peripheren Blut 100-120 Tage beträgt, ist es möglich, diese Veränderungen auch noch mehrere Monate nach Abstinenzbeginn zu detektieren. Die Spezifität des Markers ist eher gering, da eine Erhöhung des MCV zahlreiche Ursachen haben kann, wie zum Beispiel übermäßiges Rauchen.

#### Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT)

CDT stellt einen Marker für den Nachweis eines chronischen Alkoholkonsumes von 40-60 g Ethanol pro Tag über mindestens 2-4 Wochen dar. Die biologische Halbwertszeit liegt bei circa 14 Tagen, bei Abstinenz normalisieren sich die Werte innerhalb von 10-14 Tagen. Transferrin zählt zu einem steroidresponsiven Protein und unterliegt Variationen

zwischen Geschlecht und Alter. Eine Erhöhung des CDT kann nicht nur bei chronischem Alkoholkonsum, sondern auch bei einer genetisch bedingten Transferrin-Variante, während der Schwangerschaft oder bei hepatischen Erkrankungen, z. B. einer primär biliären Zirrhose (PBC), chronischer Hepatitis oder einem Leberzellkarzinom auftreten. CDT wird als relativer Anteil des Carbohydrate-defizienten Transferrin (% CDT) angegeben. Durch die prozentuale Angabe anteilig am Gesamt-Transferrin kann das Risiko für ein falsch positives Ergebnis minimiert werden. CDT wird ein hoher Stellenwert in der Diagnostik und Erkennung von chronischem Alkoholkonsum, vor allem in Bezug auf forensische und arbeitsmedizinische Fragestellungen zugeschrieben. Es zeigte sich eine Überlegenheit gegenüber GGT und MCV und es stellt mit einer Sensitivität von 95% und einer Spezifität von 93,3 % einen guten Marker für den Nachweis chronischen Alkoholabusus dar (Solomons 2012).

#### 1.5.2.2 Direkte Alkoholmarker im Blut

##### Phosphatidylethanol (Peth)

Peth ist neben Fettsäureethylester und Ethylglucuronid einer der direkten Alkoholmetaboliten, welcher im vergangenen Jahrzehnt stark an Aufmerksamkeit gewonnen hat. Der Biomarker Peth ist ein Phospholipid, welches in Anwesenheit von Ethanol durch die Aktivität von Phospholipase D in Zellmembranen gebildet wird (Alling et al. 1984). Die Halbwertszeit von Peth liegt durchschnittlich bei 4 Tagen, wobei sich noch nach 2 Wochen Abstinenz geringe Mengen im Vollblut nachweisen lassen (Hartmann et al. 2007). Als Nachweismethode dient die Elektrospray-Massenspektrometrie von Vollblut. Der Schwellenwert für einen detektierbaren Alkoholkonsum liegt bei einer regelmäßigen Alkoholaufnahme von durchschnittlichen 50 g reinem Alkohol pro Tag über einen Mindestzeitraum von 10 Tagen (Wurst et al. 2009). Mit einer Sensitivität von 94,5 % und einer Spezifität von 100 % für Peth sind die Werte vergleichbar mit denen von Fettsäureethylester (FSEE) im Haar mit einer Sensitivität und Spezifität von 94,4 % und 90 %. Diese positiven Ergebnisse beim Nachweis von Peth zeigten ihre Reproduzierbarkeit in weiteren Studien (Wurst 2004).

## 1.6 Alkoholmarker EtG und FSEE

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl von Möglichkeiten untersucht, um den chronischen Alkoholkonsum mittels Haaranalysen nachzuweisen. Im Laufe der Zeit rückten zwei Metaboliten des Alkoholstoffwechsels in den engeren Fokus der Wissenschaft: Fettsäureethylester (FSEE) und Ethylglucuronid (EtG). FSEE und EtG zählen zu den direkten Alkoholmarkern. Da beide Marker die Ethylgruppe des Ethanolmoleküls enthalten, besitzen sie eine größere Spezifität als übliche indirekte Alkoholmarker im Blut. Keratinisierte Strukturen, z. B. Haare sind dafür bekannt, dass in ihnen Substanzen besser und über einen längeren Zeitraum gespeichert werden können als in Blut, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten. Somit bietet die Haaranalyse eine nicht-invasive Möglichkeit mit einem größeren diagnostischen Zeitfenster bei retrospektiven Nachweismethoden von eingelagerten Stoffen im Haar. Die Haaranalyse ermöglicht es, den Alkoholkonsum über einen Zeitraum von bis zu mehreren Monaten zu beurteilen und ist daher ideal für die Überwachung von Transplantationskandidaten geeignet, bei denen ein längerer Zeitraum der Alkoholkarenz vorausgesetzt wird. Der haaranalytische Nachweis von FSEE und EtG wird regelmäßig in der forensischen Toxikologie und bei der medizinisch-psychologischen Untersuchung zur Beurteilung der Fahreignung verwendet. Diese beiden Stoffe haben großes Potential in Bezug auf einen erfolgreichen Einsatz als Alkoholmarker im Haar.

### 1.6.1 Ethylglucuronid (EtG)

#### 1.6.1.1 Entstehung und Einlagerung im Haar

EtG gilt als Phase II-Metabolit des Ethanols und entsteht durch eine Reaktion von Ethanol mit aktivierter Glucuronsäure. Die Glucuronidierung des Ethanols findet zum größten Teil im endoplasmatischen Retikulum der Leberzellen statt und wird von der UDP-Glucuronosyl-Transferase katalysiert. Bei dieser enzymatischen Reaktion sind deren Isoformen UGT 1A1 und UGT 7B2 in den Leberzellen am aktivsten (Pragst und Yegles 2008). Zu kleinen Teilen findet diese Reaktion auch in Zellen der Darmmukosa und der Lunge statt. Zwischen 0,02 und 0,06 % des konsumierten Ethanols wird zu EtG umgewandelt (Dahl et al. 2002). EtG ist eine polare, wasserlösliche und nicht flüchtige

Verbindung. Mit einem Molekulargewicht von 222 g/mol ist EtG ein sehr kleines Molekül. Der Schmelzpunkt liegt bei 150° C.

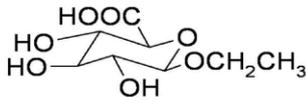


Abbildung 1: Chemische Struktur von Ethylglucuronid

Die Halbwertszeit im Serum beträgt 2 bis 3 Stunden (Schmitt et al. 1997). Die maximale Konzentration von EtG lässt sich 2 bis 3,5 Stunden nach Alkoholkonsum im Serum detektieren, anschließend fällt die EtG-Konzentration exponentiell ab (Høiseth et al., 2007). Im Jahre 2000 wurden erstmals Arbeiten über den Nachweis von EtG im Haar veröffentlicht (Alt et al. 2000; Skopp et al. 2000). Da EtG eine hydrophile Carbonsäure ist, die im physiologischen pH-Bereich im anionischen Zustand vorliegt, ist die Neigung zur Einlagerung in die Zellen der Haarwurzel gering. Nach dem jetzigen Wissensstand wird davon ausgegangen, dass EtG über den Schweiß in das Haar diffundiert (Schummer et al. 2008). Da EtG im Körper ausschließlich aus Ethanol als direkter Alkoholmetabolit gebildet wird und kein endogener EtG-Spiegel existiert, eignet sich dieser Stoff gut zum Nachweis von Alkoholkonsum. Bei der Untersuchung von Verdachtsfällen von mit Ethanol kontaminierten Blutproben spielt EtG ebenfalls eine große Rolle: Ist neben Ethanol kein EtG nachweisbar, könnte eine Kontamination vorliegen.

#### 1.6.1.2 EtG im Urin

In den letzten Jahren rückte der Nachweis von EtG im Urin zunehmend in den Fokus der Forschung. Kurze Zeit (<60 Minuten) nach Alkoholkonsum wird EtG bereits im Urin ausgeschieden. Auch nach Aufnahme geringer Mengen Alkohol bleibt EtG bis circa 24 Stunden im Urin nachweisbar (Helander A. et al. 2009). Nach exzessivem Konsum beträgt das Nachweisfenster sogar bis zu 130 Stunden (Høiseth et al. 2009). Die Sensitivität ist abhängig von der Alkoholmenge, der Zeitdifferenz zwischen Probenabgabe und Alkoholaufnahme sowie dem angewendeten Methoden-Cut-off (Albermann M. et al. 2012; Jatlow P. et al. 2014) Da die EtG Konzentration im Urin

diureseabhängig ist sollte der Kreatiningehalt bei der Interpretation berücksichtigt werden (Andresen-Streichert et al. 2018). In einer Studie mit Transplantationskandidaten stellte sich uEtG mit einer Sensitivität und Spezifität von über 89% als zuverlässiger und vielversprechender Alkoholmarker in diesem Patientenkollektiv dar (Staufer et al. 2011).

## 1.6.2 Fettsäureethylester (FSEE)

### 1.6.2.1 Entstehung und Einlagerung im Haar

Neben EtG wird diesem direkten Metaboliten des Ethanol eine große Bedeutung als Alkoholmarker im Haar zugeschrieben. FSEE sind ebenfalls Produkte des nicht-oxidativen Ethanolmetabolismus. Freie Fettsäuren, Lipoproteine und Phospholipide reagieren im Körper mit Ethanol zu Fettsäureethylestern. An dieser Reaktion, die in nahezu allen Geweben nachgewiesen werden konnte, sind verschiedene Enzyme beteiligt, unter anderem die spezifischen zytoplasmatischen und mikrosomalen FSEE-Synthasen und unspezifischen Esterasen (Laposata 1998; Laposata und Szczepiorkowski 1995). Die Aktivität der FSEE-Synthase konnte im Lebergewebe, Pankreasgewebe, im Myokard, Fettgewebe, weißen Blutzellen und verschiedenen Regionen des Gehirns beobachtet werden (Pragst et al. 2001). Insgesamt konnten mehr als 20 Ethylester von gesättigten und ungesättigten, linearen und verzweigten Fettsäuren mit 12 bis 20 Kohlenstoffatomen im Haar detektiert werden (Pragst und Yegles 2006). Für die Analyse als Alkoholmarker ist die Summe der Konzentrationen der vier verschiedenen FSEE Myristinsäure, Palmitinsäure, Ölsäure und Stearinsäure von Bedeutung. Die Summe der im Haar detektierten Mengen an FSEE wird in Nanogramm pro Milligramm (ng/mg) ausgedrückt. Durch pathogenetische Mechanismen wurde FSEE auch eine Rolle in der alkoholinduzierten Organschädigung zugesprochen. Zu diesen pathogenetischen Mechanismen zählen unter anderem die funktionelle Störung von Membranen, die Umkehr von oxidativen Phosphorylierungsvorgängen, die Zunahme lysosomaler Instabilität und die Abnahme der Proteinsynthese und Zellproliferation (Laposata 1998). Die Einlagerung der lipophilen FSEE geschieht überwiegend über das Sebum. Jedes Haar wird ringförmig von einer Talgdrüse umgeben, welche regelmäßig Sebum produziert, das die Kopfhaut sowie den Haarschaft bedeckt (Pragst et al. 2001).

## 1.7 Ziele und Fragestellungen der vorliegenden Studie

Die Abstinenzprüfung der Patienten mit schwerer Lebererkrankung wird durch das Fehlen geeigneter Biomarker in dieser Patientengruppe erschwert. Beispielsweise gelten sowohl eine erhöhte GGT als auch ein erhöhter CDT-Wert in dieser Patientengruppe als nicht spezifisch (McCallum und Masterton 2006). Insbesondere nicht-oxidative Metaboliten des Ethanols, die nicht ausschließlich in der Leber synthetisiert werden, sollten eine bessere Validität in dieser Patientengruppe haben.

Die vorliegende Arbeit untersucht zwei nicht-oxidative Ethanolmetaboliten im Haar bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung. Hierbei handelt es sich um Fettsäureethylester und Ethylglucuronid. Im Vergleich zu den üblichen indirekten Alkoholmarkern im Blut, wie GGT und CDT, zeigte sich eine Überlegenheit von FSEE und EtG bezüglich der Sensitivität und Spezifität im Nachweis von übermäßigem Alkoholkonsum bei Patienten ohne Lebererkrankung (Süsse et al. 2010). Eine objektive Beurteilung der Langzeitalkoholabstinenz oder des Alkoholkonsums wäre für eine Optimierung der Auswahl der für eine Transplantation geeigneten Patienten sowie für die Nachuntersuchung nach einer Transplantation hilfreich. Valide Biomarker in dieser Patientengruppe können sich ebenso bei anderen klinischen Fragestellungen als nützlich erweisen. In der Literatur fanden sich bislang nur wenig Untersuchungen, welche die Testvalidität von FSEE und EtG im Haar bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung mit vorausgegangenem Alkoholkonsum bestimmt haben. Aus diesem Grund wurde diese Pilotstudie zur Untersuchung der Alkoholmarker FSEE und EtG im Haar zur Beurteilung des Alkoholkonsums während der letzten 3 Monate vor Probenentnahme bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung durchgeführt. Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung der Korrelation zwischen der Konzentration der Alkoholmarker FSEE und EtG im Haar und der aufgenommenen Alkoholmenge der vorangegangenen 3 Monate vor der Probenentnahme bei leberkranken Patienten. Es soll geprüft werden, ob die Alkoholmarker FSEE und EtG im Haar als zuverlässige diagnostische Marker für den vorangegangenen Alkoholkonsum von Patienten mit Lebererkrankungen verwendet werden können, um so den Alkoholkonsum von Transplantationspatienten gegebenenfalls besser erfassen zu können. Des Weiteren können die Ergebnisse dieser Studie verwendet werden, um eine größere Studie mit mehr Probanden zu unterstützen.

## 1.8 Hypothesen

- i. Die Konzentration der Alkoholmarker FSEE und EtG im Haar korreliert mit der Alkoholaufnahme der vorangegangenen 3 Monate vor der Probenentnahme.
- ii. Die gemessenen Konzentrationen von EtG und FSEE im Haar korrelieren miteinander.
- iii. Die Alkoholbiomarkerkonzentration im Haar ist nicht mit dem Schweregrad oder der Ätiologie der Lebererkrankung assoziiert.

Als sekundäre Ziele ergaben sich folgende Hypothesen:

- Die Alkoholmarkerkonzentration im Haar ist weder mit dem Körpergewicht bzw. dem Body Mass Index (BMI), noch mit der Nierenfunktion assoziiert.
- Weder die Frequenz der Haarwäsche noch die Anwendung von Haarfärbemitteln ist mit der Konzentration von FSEE und EtG im Haar assoziiert.

## 2 Patienten und Methoden

Diese nicht-interventionelle Beobachtungsstudie wurde in der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der Charité - Universitätsmedizin Berlin unter der Leitung von Frau Univ.-Prof. Dr. C. Spies durchgeführt.

Die Studie erfolgte in Kooperation mit dem Studiocenter Scott Stewart, M.D. Center for Drug and Alcohol Programs, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences (Medical University of South Carolina, Charleston USA).

Es wurden Patienten eingeschlossen, die sich im Zeitraum von Juli 2008 bis Februar 2011 aufgrund einer schweren Lebererkrankung zur Evaluation für eine Lebertransplantation in der Abteilung für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie vorstellten oder sich in stationärer Behandlung in der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité, Campus Virchow-Klinikum, Berlin befanden. Die Patienten wurden über die Studie sowohl mündlich als auch schriftlich aufgeklärt und deren schriftliche Einwilligung wurde auf einem Vordruck eingeholt. Für die Studie liegt ein Votum unter der Antragsnummer EA1/221/07 durch die Ethikkommission der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité-Mitte vor.

## 2.1 Patientenauswahl

### 2.1.1 Einschlusskriterien

Voraussetzung zur Studienteilnahme war das Vorliegen einer schweren Lebererkrankung. Ein MELD-Score (Model of end-stage liverdesease) von >15 wurde angestrebt. Die Ätiologie der Lebererkrankung wurde erfasst, war jedoch nicht begrenzt auf bestimmte Ätiologien. Somit wurden neben Patienten mit äthyltoxischer Leberzirrhose beispielsweise auch Patienten mit infektiöser Hepatitis sowie Patienten mit hepatozellulärem Karzinom eingeschlossen. Eine weitere Voraussetzung war das Mindestalter der Patienten von 21 Jahren. Die unterschriebene Einwilligungserklärung des Patienten musste vorliegen. Belastungen für die Studienteilnehmer ergaben sich aus dem Zeitaufwand für die Bearbeitung des Fragebogens und der Abgabe zweier Haarproben. Das diagnostische sowie therapeutische Vorgehen wurden durch die Untersuchung nicht beeinflusst.

### 2.1.2 Ausschlusskriterien

Ein Patientenalter unter 21 Jahre, die Ablehnung der Einverständniserklärung und fehlende Einwilligung zur Datenspeicherung sowie unzureichende Kopf- und Körperbehaarung stellten Ausschlusskriterien dar. Patienten mit einer Blutalkoholkonzentration über 0,8 Promille oder unklarer Alkoholanamnese wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Ein weiteres Ausschlusskriterium stellte eine nachgewiesene Verringerung der kognitiven Leistungsfähigkeit dar (z. B. Korsakow-Syndrom).

### 2.1.3 Datenschutz

Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes fanden in der Verschlüsselung der Daten mit Buchstaben ohne Namen oder Geburtsdatum Anwendung. Jedem Studienteilnehmer wurde eine individuelle Patienten-ID zugeteilt, bestehend aus BE- für "Berlin" und zwei weiteren Buchstaben, die fortlaufend verwendet wurden. Anhand einer Patienten-Identifikationsliste ist es möglich, der Patienten-ID den Patientennamen und das Geburtsdatum zuzuordnen. Eine Genehmigung vom Datenschutzbeauftragten der Charité liegt für diese Studie vor.

## 2.2 Untersuchungsmethoden

### 2.2.1 Aufbau des Dokumentationsbogens

In dem Dokumentationsbogen wurden die demographischen Daten wie Alter, Geschlecht, die ethnische Herkunft und die klinische Diagnose der Lebererkrankung erfasst. Außerdem wurden die Studienteilnehmer zu ihren Haarpflegegewohnheiten bezüglich der Häufigkeit der Haarwäsche pro Woche und dem Färben/ Dauerwelle der Haare in den letzten 3 Monaten befragt. Größe und Gewicht wurden dokumentiert

### 2.2.2 Schweregrad der Lebererkrankung

Mit Hilfe des klinisch validierten MELD-Scores wurde in dieser Studie der Schweregrad der Lebererkrankung bewertet. Der MELD-Score wird aus dem Serum-Kreatinin, Serum-Gesamtbilirubin und dem INR berechnet. Hierfür wurden die jeweils aktuellsten Laborwerte aus der Patientenakte entnommen und berechnet:

### 2.2.3 Alkoholkonsum

Mittels einer kalenderbasierten Einschätzung des eigenen Trinkverhaltens wurde der Alkoholkonsum der Patienten innerhalb der letzten 90 Tage vor der Haarprobenentnahme ermittelt. Es wurde die Timeline follow back - Methode verwendet (Alcohol consumption-Timeline follow back, TLFB. Sobell und Sobell 1992).

Anhand der Gesamtzahl, Menge und Alkoholgehalt der konsumierten alkoholischen Getränke wurde die insgesamt konsumierte Alkoholmenge in Gramm reinen Alkohols der letzten 3 Monate errechnet.

Die Alkoholmenge wurde mithilfe folgender Angaben berechnet. Ein Glas (0,2 l) Wein entspricht 16,2 g reinem Alkohol. Eine Flasche Bier (0,33 l) entspricht 12,3 g reinen Alkohols.

### 2.2.4 AUDIT-Fragebogen

Hinsichtlich der alkoholismusrelevanten Diagnostik wurde der AUDIT-Fragebogen bei jedem Studienteilnehmer durchgeführt. Der Fragebogen befindet sich im Anhang.

## 2.3 Probenmaterial

### 2.3.1 Laborchemische Diagnostik

Im Rahmen der klinischen Routine erfolgte die Bestimmung des mittleren korpuskulären Volumens (MCV) und der gamma - Glutamyltransferase (GGT), sowie die Bestimmung von INR, Gesamt-Bilirubin und Serum-Kreatinin zur Ermittlung des MELD-Scores. Die Bestimmung der Parameter erfolgte im Serum.

### 2.3.2 Haarprobengewinnung

Für die Haaranalyse wurden zwei circa 3 cm lange und circa 3 mm dicke Haarsträhnen eines jeden Patienten verwendet. Die Haarproben wurden am Hinterkopf an zwei unterschiedlichen Stellen in einer kosmetisch möglichst unauffälligen Art und Weise entnommen. Die Haarsträhnen wurden möglichst nah an der Kopfhaut zusammengebunden und mit einer stumpfen Schere abgeschnitten. Im Falle von Haarproben mit einer Länge über 3 cm wurden diese am distalen Ende auf 3 cm gekürzt, kürzere Segmente wurden in vollem Umfang analysiert. Alternativ zur Kopfbehaarung wurden auch Haare anderer Körperregionen verwendet. Bei einem Studienteilnehmer wurde aufgrund mangelnder Kopfbehaarung Achselhaar zur Analyse herangezogen. Haarproben, bestehend aus Körperbehaarung, wurden in voller Länge analysiert. Jeweils zwei Haarproben wurden in zwei separaten, verschlossenen und mit der Patienten-ID des Studienteilnehmers beschrifteten Briefumschlägen bis zur weiteren Bearbeitung höchstens 4 Monate trocken bei Raumtemperatur gelagert.

### 2.3.3 Analytischer Nachweis und Bestimmung von EtG im Haar

Der analytische Nachweis von EtG in den Patientenhaarproben wurde im Institut für Rechtsmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Zur Bestimmung der EtG-Konzentration im Haar wurde die Methode der Liquid chromatography electrospray ionisation tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS-MS) verwendet, welche durch Morini im Detail beschrieben wurde (Morini et al. 2006). Die hydrophile Eigenschaft von EtG ermöglicht die Extraktion aus dem Haar durch Wasser. Neben der verwendeten Methode existieren noch weitere verschiedene Methoden zum Nachweis von EtG im Haar, welche von Pragst und Yegles (Prags und Yegles 2006) detailliert beschrieben

werden. Die Konzentration im Haar wird in Pikogramm pro Milligramm (pg/mg) ausgedrückt.

#### 2.3.4 Analytischer Nachweis und Bestimmung der FSEE im Haar

Die Analyse der Haarproben auf den Gehalt an Fettsäureethylestern erfolgte ebenfalls durch das Institut für Rechtsmedizin der Charité - Universitätsmedizin Berlin (Hr. Prof. Dr. Pragst). Da die verschiedenen FSEEs im Haar in geringen Konzentrationen (im Bereich ng/mg) vorliegen und die Matrix komplex zusammengesetzt ist, ist eine besondere Form der Analytik erforderlich. Für die Bestimmung der FSEE wurde die Methode der Gaschromatographie mit Massenspektroskopie (SPME-GS/MS) kombiniert, da mit dieser Methode der Nachweis von sehr geringen Mengen an FSEE substanzspezifisch möglich ist (Laposata und Szczepiorkowski, 1995). Als interne Standards wurden deuterierte Fettsäureethylester verwendet, die eine einfache und richtige Quantifizierung und gleichzeitig die Methodenkontrolle ermöglichen. Eine nähere Beschreibung erfolgte durch Pragst und Kollegen (Pragst, Auwerter, Sporkert & Spiegel, 2001). Die Präparation der Haarproben und Analysemethoden zur Bestimmung der FSEE wurden analog zu der Beschreibung durch Pragst (Pragst et al. 2001) durchgeführt. Die Nachweisgrenze für FSEE lag zwischen 0,01 und 0,04 ng/mg.

### 2.4 Statistische Datenauswertung

Die Durchführung der statistischen Analysen erfolgte mit Hilfe der Software SPSS Inc. (IBM SPSS Statistics 20). Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine explorative Datenanalyse und alle P-Werte sind rein explorativ zu interpretieren und haben keinen confirmatorischen Charakter. Da es sich um eine Pilotstudie zur Prüfung der Durchführbarkeit des Protokolls handelt, wurde eine geringe Fallzahl von zunächst 25 Patienten ohne vorherige Fallzahlplanung für eine bestimmte Haupthypothese festgelegt. Bei der Datenerhebung gab es keine Missings. Es wurden keine Adjustierungen für multiples Testen vorgenommen. Bei allen verwendeten Tests wird ein 2-seitiges sig. Niveau von 5% verwendet. Für den Parameter Alter wurden für beide Gruppen (Alkohol positiv/negativ) Mittelwerte bestimmt. Der Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen wurde mittels T-Test durchgeführt. Häufigkeitsunterschiede zwischen den Geschlechtern

wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes durchgeführt. Lagen die Daten ordinal skaliert vor (BMI, Kreatinin, MELD-Score, AUDIT-Score), wurden Medianwerte mit der 25%- und 75%-Percentile (IQR) angegeben. Hier wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Zum Vergleich der MELD- und der AUDIT Punktzahl bei Patienten ohne und mit Alkoholkonsum innerhalb der letzten 90 Tage wurde der Median berechnet und das Ergebnis in einem Boxplot abgebildet. Dargestellt wird die Box mit den Quartilen (Q1-Q3) und Median, die Länge der Box entspricht dem Interquartilsabstand. Die Länge der Whisker wurde auf maximal das 1,5-fache des Interquartilsabstands ( $1,5 \times \text{IQR}$ ) beschränkt. Im Vergleich der AUDIT-Punktzahl zeigen sich Ausreißer nach oben. Zur Überprüfung des Zusammenhanges zwischen der in den letzten 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge und der Konzentration der Biomarker im Haar wurde eine Korrelation nach Spearman durchgeführt. Der Korrelationskoeffizient wurde jeweils für die EtG- und FSEE-Konzentration für die zurückliegenden 14, 28, 56 und 90 Tage ermittelt. Zudem wurde eine lineare Regression mit den logarithmierten EtG und FSEE-Werten sowie der logarithmierten Alkoholmenge der letzten 28 bzw. 90 Tage durchgeführt. Es wurde die abhängige Variable  $\log \text{EtG}$ ; bzw.  $\log \text{FSEE}$ , die unabhängige Variable  $\log \text{D28}$  bzw.  $\log \text{D90}$  und die Kovariate MELD-Score gewählt. Zur Beurteilung bestmöglicher Cut-off-Werte wurde eine ROC-Analyse durchgeführt und eine Darstellung der Rate der Richtig-Positiven (Sensitivität) gegen die Rate der Falsch-Positiven (1-Spezifität) bei verschiedenen Cut-off-Werten in jeweils einer Kurve für EtG und FSEE dargestellt. Der Wert, dessen Punkt auf der ROC-Kurve den geringsten Abstand zur linken oberen Ecke hat, stellt die optimale Kombination aus Sensitivität und Spezifität dar und ist somit als Cut-off-Wert am besten geeignet. Je näher der Wert an der Diagonalen verläuft, desto ungeeigneter ist er. Um die Testgüte (Validität) zu bewerten, wurde die Fläche unter der ROC-Kurve, die so genannte Area Under the Curve (AUC), berechnet. Je höher der Wert ist, desto besser ist die Diskriminierungsfähigkeit des Parameters.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Beschreibung des Studienkollektivs**

In der vorliegenden Studie wurden Haarproben von 25 Patienten ( $n=25$ ) im Alter von 27 bis 83 Jahren (Mittelwert 53,4 Jahre; KI 95%: 48-59) mit fortgeschrittener Leberzirrhose

auf die Konzentration von FSEE und EtG im Haar untersucht. Das Patientenkollektiv setzt sich aus 19 Männern (76%) und 6 Frauen (24%) zusammen. In die Studie wurden sowohl Patienten mit alkoholischer als auch mit nicht alkoholischer Lebererkrankung eingeschlossen. Als häufigste Diagnose zeigte sich die äthyltoxische Leberzirrhose (n=11/44%) gefolgt von Hepatitis C (n=4/16%) und dem hepatozellulären Karzinom (n=2/8%). Die restlichen Erkrankungen wurden unter Sonstiges (n=8/32%) zusammengefasst.

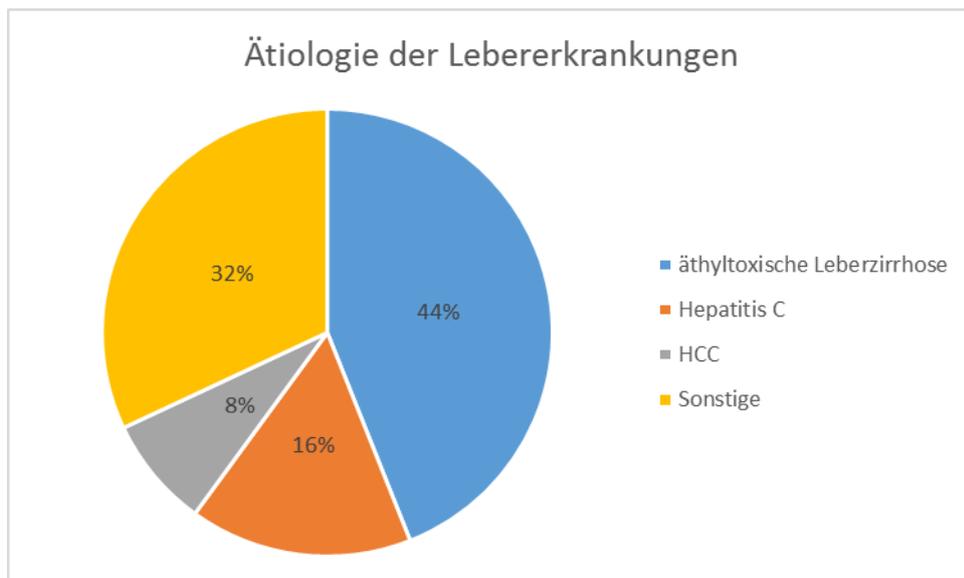


Abbildung 2: Ätiologie der Lebererkrankung der untersuchten Studienpopulation, N=25

Gemäß den Angaben bei der Befragung konsumierten 11 Patienten (44%) innerhalb der letzten 90 Tage vor dem Untersuchungszeitpunkt Alkohol, 14 Patienten (56%) verneinten den Konsum von Alkohol.

Tabelle 1: Vergleich der Patientengruppen mit und ohne Alkoholkonsum innerhalb der letzten 90 Tage. a T-test, b Chi-Quadrat-Test, c Mann-Whitney-U-Test

	<b>Alkohol positiv</b> n = 11,	<b>Alkohol negativ</b> n = 14,	p-Wert
Alter, Mittelwert (SD)	50 (12)	56 (14)	0,234 <sup>a</sup>
Geschlecht (Männer/Frauen) (N%)	8/3 (72,7/27,3)	11/3 (78,6/21,4)	1,000 <sup>b</sup>
BMI, median [IQR]	23,3 [21,7-28,2]	24,7 [22,12-27,8]	0,460 <sup>c</sup>
Kreatinin, median [IQR]	0,88 [0,6-1,1]	1,05 [0,8-1,31]	0,260 <sup>c</sup>

MELD-Score, median [IQR]	13 [7-15]	15,5 [13,25-19,25]	0,07 <sup>c</sup>
AUDIT, median [IQR]	5 [2-7]	0 [0]	<0,01 <sup>c</sup>
Haarfärbung (N%)	1 (9,1)	2 (14,3)	

### **Alter:**

Das Durchschnittsalter lag in der Kontrollgruppe bei 56,3 Jahren und bei Patienten mit vorangegangenem Alkoholkonsum bei 49,7 Jahren. Nach Berechnung der Effektstärke n. Cohens d zeigt sich ein mittlerer Effekt  $t(23)=1.223$ ;  $p=0,234$ ;  $d=0,499$ .

### **Body-Mass-Index (BMI):**

15 Patienten wiesen Normalgewicht auf (BMI zwischen 20 und 25), 5 Patienten lagen mit dem BMI im Bereich des Übergewichts (BMI 25-30) und 4 Patienten waren adipös (BMI>30). 1 Patient war untergewichtig (BMI<20).

Im Patientenkollektiv mit vorangegangenem Alkoholkonsum lag der BMI im Median bei 23,3, in der Kontrollgruppe lag der Median bei 24,7. Auch hier ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

### **Kreatinin:**

Im Vergleich der Kreatininwerte zeigte sich in der Kontrollgruppe (Alkohol negativ) ein höherer Median 1,05 im Vergleich zur Alkohol-positiven Gruppe von 0,88. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant.

### **MELD-Score:**

In der Studiengruppe mit vorherigem Alkoholkonsum lag der MELD-Score im Median niedriger als in der Kontrollgruppe (13 [7-15] bzw 15,5 [13,25-19,25]). Dieser Unterschied war ebenfalls nicht statistisch signifikant.

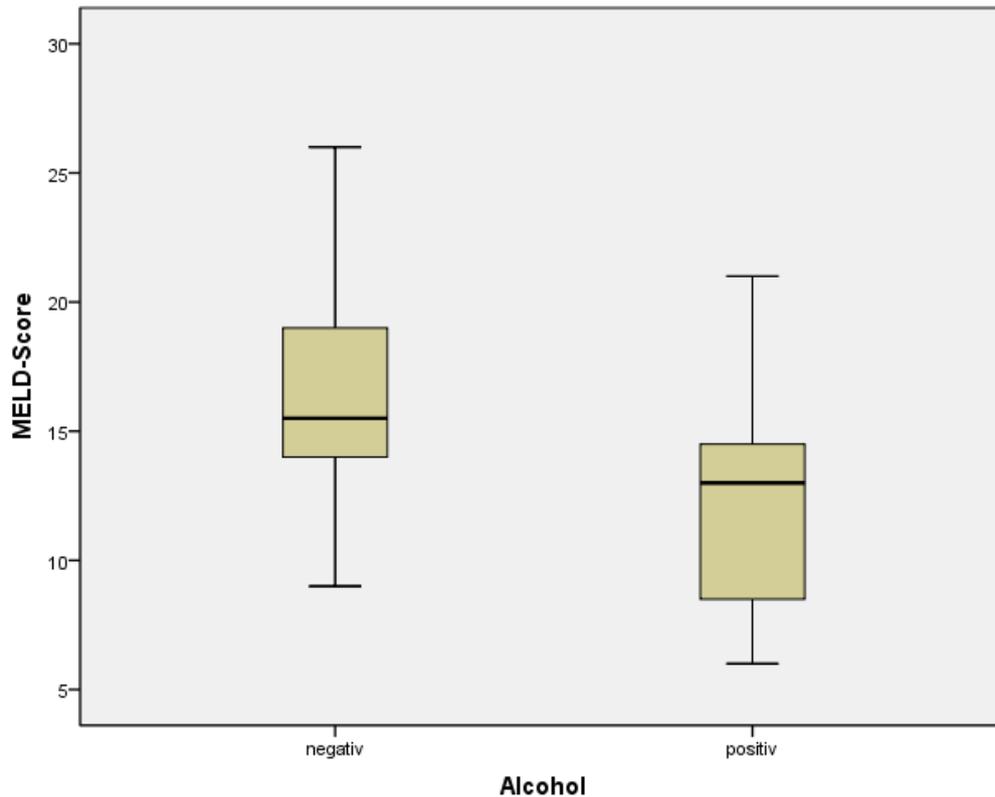


Abbildung 3: Boxplot zum Vergleich des MELD-Scores bei Patienten ohne (N=14) und mit Alkoholkonsum (N=11) innerhalb der letzten 90 Tage

### AUDIT:

Das Patientenkollektiv mit anamnestischem Alkoholkonsum in den letzten 90 Tagen hatte eine höhere Punktzahl im AUDIT verglichen mit Patienten ohne anamnestischen Alkoholkonsum. So zeigte sich bei dem Patientenkollektiv mit vorangegangenem Alkoholkonsum ein Median von 5, bei Patienten ohne Alkoholkonsum lag der Median bei 0. Der Mann-Whitney-U Test zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ( $z=-3,123$ ;  $p<.01$ ). Die Alkohol positive Gruppe weist einen signifikant höheren AUDIT-Score auf.

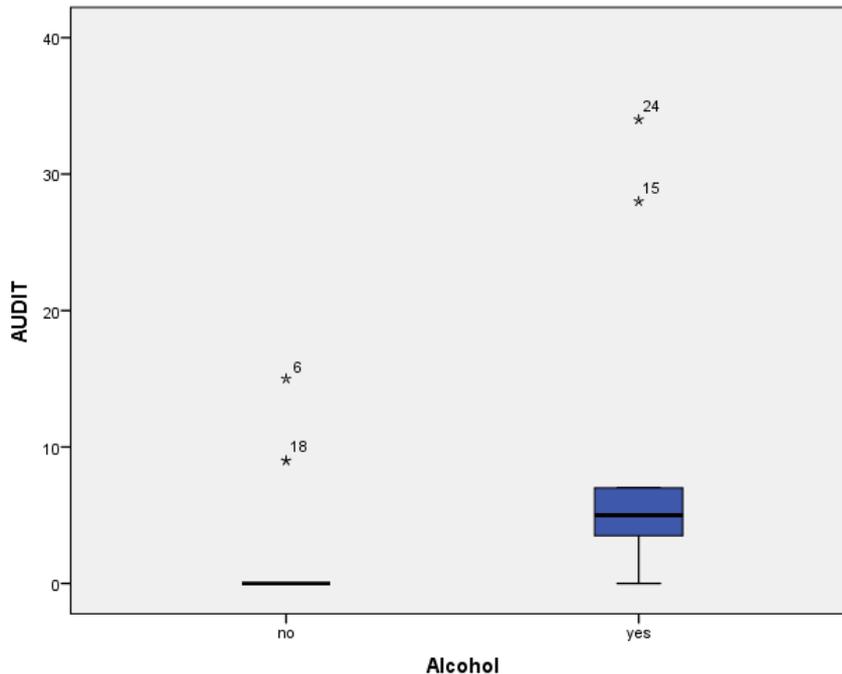


Abbildung 4: Boxplot zum Vergleich der AUDIT Punktzahl bei Patienten ohne (N=14) und mit Alkoholkonsum (N=11) innerhalb der letzten 90 Tage

### Haarfärbung:

12% der Patienten (3 Patienten) gaben an, ihre Haare regelmäßig zu färben. Hiervon zählte ein Studienteilnehmer zu der Gruppe mit anamnestischen Alkoholkonsum, die anderen zwei Patienten haben keinen Alkohol konsumiert. Die restlichen 22 Patienten hatten in den letzten 3 Monaten weder Haarfarbe, Blondierung noch eine Dauerwelle angewandt.

## 3.2 Ergebnisse der Haaranalyse

### 3.2.1 Wahl der Cut-off Werte

Die Nachweisgrenze (Cut-Off), um zwischen Abstinenzlern, Gelegenheitstrinkern und chronischen Trinkern zu unterscheiden, wird in Tabelle 2 dargestellt. Die in dieser Studie verwendeten Cut-off Werte wurden erstmals 2009 von der Society of Hair Testing (SoHT) veröffentlicht und in einer weiteren Empfehlung 2012 bestätigt. Die empfohlenen Werte wurden in vorangegangenen Studien ebenfalls zur Interpretation der Ergebnisse verwendet (Albermann et al. 2010, Pragst et al. 2010; Pragst und Yegles, 2006).

Tabelle 2: Cut-off-Werte cETG und cFSEE

	cEtG[pg/mg]	cFSEE[ng/mg]
Abstinenz	<7	<0,2
Gelegenheitstrinker	7,0-30,0	0,2-0,5
exessiver chronischer Trinker	>30	>0,5

### 3.2.2 Nachweis von EtG im Haar

Bezogen auf die oben genannten Cut-off-Werte ergab sich folgende Einstufung: Eine Haarprobe mit einer Konzentration unter 7 pg/mg wurde als negativ gewertet, Proben mit einer EtG Konzentration über 7 pg/mg wurden als positives Ergebnis eingestuft.

In 8 der insgesamt 25 Haarproben (32%) wurde eine positive EtG-Konzentration ( $cEtG > 7$  pg/mg) gemessen. Konzentrationen über 30 pg/mg, welche auf einen exzessiven chronischen Alkoholkonsum schließen lassen, konnten in 7 Fällen (28%) nachgewiesen werden. 17 Proben (68%) wiesen eine Konzentration von unter 7pg/mg auf und wurden somit als negativ gewertet.

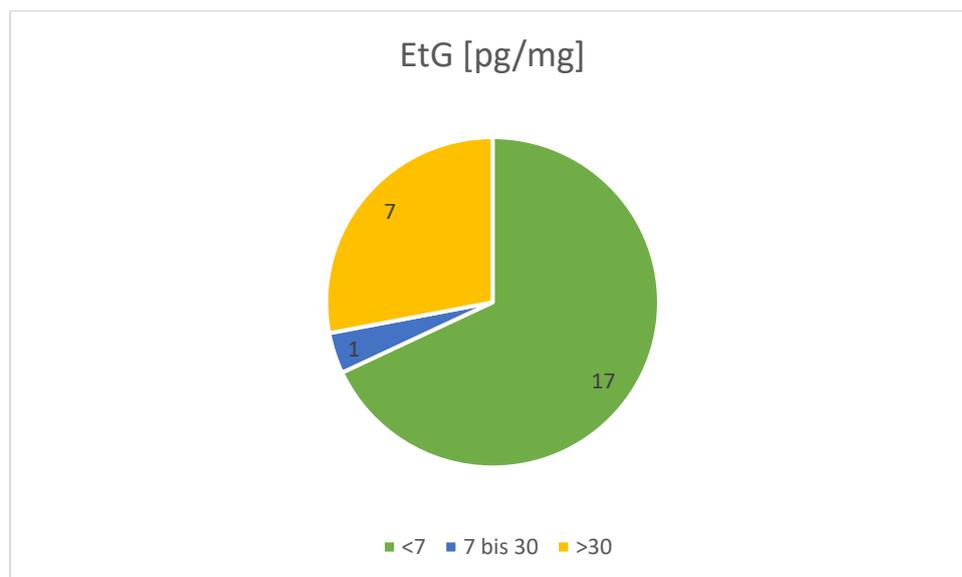


Abbildung 5: Verteilung der EtG-Konzentration in den 25 Haarproben

In der Gruppe von Studienteilnehmern ohne vorherigen Alkoholkonsum gemäß Selbst-Anamnese wurden 12 Patienten (85,7%) als richtig negativ erkannt, bei 2 Patienten (14,3%) wurde eine erhöhte EtG-Konzentration im Haar nachgewiesen.

In der Patientengruppe mit Alkoholkonsum in der Anamnese konnte in 6 Fällen (54,5%) ein positiver Biomarkernachweis erbracht werden. In 5 Fällen (45,5%) zeigte sich ein

falsch negatives Ergebnis. Die diagnostische Sensitivität liegt bei 0,545, die Spezifität bei 0,857.

*Tabelle 3: Darstellung der Ergebnisse von EtG bei einem Cut-off Wert von 7pg/mg*

	Positive Alkoholanamnese (N=11)	Negative Alkoholanamnese (N=14)
EtG >7 pg/mg (N%)	6 (54,5)	2 (14,3)
EtG <7 pg/mg (N%)	5 (45,5)	12 (85,7)

Bei einem **Cut-off-Wert von >30pg/mg** ergaben sich folgende Ergebnisse:

*Tabelle 4: Darstellung der Ergebnisse von EtG bei einem Cut-off Wert von 30pg/mg*

	Positive Alkoholanamnese	Negative Alkoholanamnese
EtG >30 pg/mg (N%)	5 (45,5)	2 (14,3)
EtG <30 pg/mg (N%)	6 (54,5)	12 (85,7)

Es wurden 12 Proben als richtig negativ gewertet, in 2 Fällen konnte trotz verneintem Alkoholkonsum eine EtG-Konzentration über 30 pg/mg detektiert werden. 5 Proben waren richtig positiv und die restlichen 6 Proben waren falsch negativ (Sensitivität=0,454, Spezifität=0,857). Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen der in den letzten 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge und der Konzentration der Biomarker im Haar wurde nach logarithmischer Transformation der Konzentration des Biomarkers und der aufgenommenen Alkoholmenge in Gramm der Korrelationsquotient nach Pearson bestimmt. Der Korrelationsquotient nach Spearman wurde jeweils für die EtG- und FSEE-Konzentration und die konsumierte Alkoholmenge für die zurückliegenden 14, 28, 56 und 90 Tage ermittelt.

*Tabelle 5: Korrelation n. Spearman für die EtG Konzentration und die konsumierte Alkoholmenge der zurückliegenden 14, 28, 56, und 90 Tage nach logarithmischer Transformation*

		14 Tage	28 Tage	56 Tage	90 Tage
EtG-Konzentration	Korrelation n. Spearman	0,234	0,366	0,480	<b>0,627</b>
	p-Wert	0,260	0,072	0,015	<b>0,001</b>

Diese Berechnungen ergaben, dass die EtG-Konzentration im Haar am stärksten mit der in den vergangenen 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge korreliert (p=.001).

Ein etwas schlechteres, jedoch auch signifikantes Ergebnis zeigte sich bei der aufgenommenen Alkoholmenge der letzten 56 Tage (p=.015).

Die lineare Regression zeigte einen signifikanten Einfluss der konsumierten Alkoholmenge der letzten 90 Tage auf die EtG-Konzentration im Haar.

Zwischen der FSEE-Konzentration und der konsumierten Alkoholmenge vor 90 Tagen ergab sich hingegen keine signifikante Korrelation.

*Tabelle 6: Lineare Regression mit der abhängigen Variable a) logFSEE bzw. b) logEtG, der unabhängigen Variable log90D und dem MELD-Score als Kovariate*

FSEE (logFSEE):	Regressions- koeffizient	T	Sig.
MELD (Kontrollvariable)	0,001	0,399	0,694
90 Tage (log90D)	0,019	1,575	0,130
EtG (logEtG)	Regressions- koeffizient	T	Sig.
MELD (Kontrollvariable)	0,085	3,811	<b>0,001</b>
90 Tage (log90D)	0,451	5,901	<b>&lt;0,001</b>

### 3.2.3 Nachweis von FSEE im Haar

FSEE konnte in 12 Fällen (48%) in einer Konzentration von >0,2 ng/mg nachgewiesen werden. In 4 Fällen (16%) lag die FSEE Konzentration über 0,5 ng/mg. In den restlichen 13 Fällen (52%) wurden Konzentrationen unter 0,2 ng/mg gemessen.

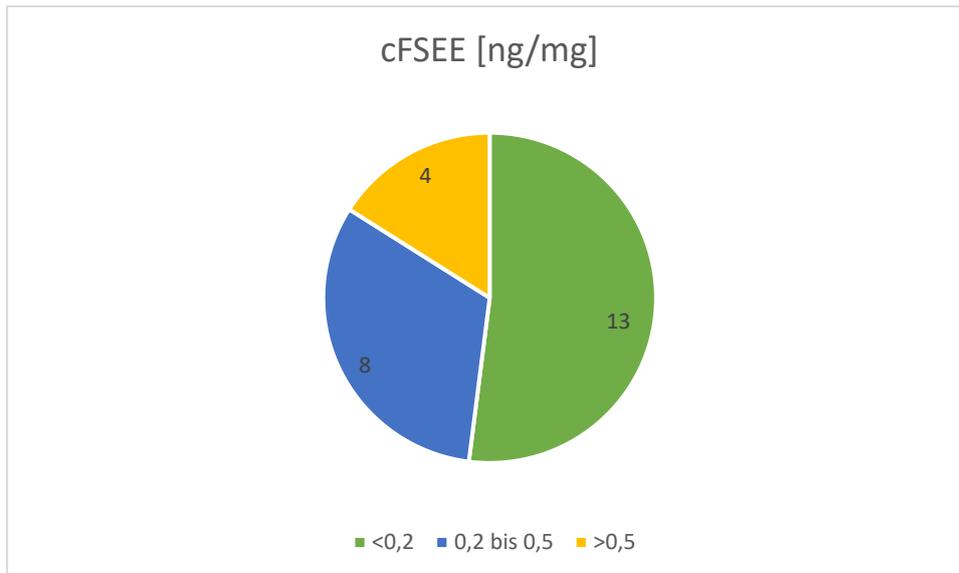


Abbildung 6: Verteilung der FSEE-Konzentration in den 25 Haarproben

Zur Interpretation der Ergebnisse wurde ein Cut-off-Wert von 0,2ng/mg gewählt. Werte unterhalb dieses Cut-offs wurden als negativ, Werte oberhalb dieses Cut-offs als positiv bzgl. der Alkoholanamnese eingestuft. Daraus ergaben sich die in Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse. 8 Proben wurden als richtig negativ und 6 Proben als richtig positiv gewertet. In 5 Fällen kam es zu einem falsch negativen und in 6 Fällen zu einem falsch positiven Ergebnis. Die Sensitivität betrug 0,545 und die Spezifität lag bei 0,571.

Tabelle 7: Darstellung der Ergebnisse von FSEE bei einem Cut-off Wert von 0,2 ng/mg

	Positive Alkoholanamnese	Negative Alkoholanamnese
FSEE >0,2 ng/mg (N%)	6 (54,5)	6 (42,9)
FSEE <0,2 ng/mg (N%)	5 (45,5)	8 (57,1)

Bei einem Cut-off Wert von >0,5 ng/mg ergaben sich folgende Ergebnisse:

Tabelle 8: Darstellung der Ergebnisse von FSEE bei einem Cut-off von 0,5 ng/mg

	Positive Alkoholanamnese	Negative Alkoholanamnese
FSEE >0,5 ng/mg (N%)	2 (18,2)	2 (14,3)
FSEE <0,5 ng/mg (N%)	9 (81,8)	12 (85,7)

Es wurden 12 Proben als richtig negativ gewertet, in 2 Fällen konnte trotz verneinten Alkoholkonsums eine positive FSEE-Konzentration über 0,5 ng/mg detektiert werden.

6 Proben waren richtig positiv. Die fehlenden 5 Proben waren falsch negativ (Sensitivität=0,181, Spezifität=0,857). Für FSEE wurde zur Überprüfung des Zusammenhanges zwischen der in den letzten 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge und der Konzentration des Biomarkers im Haar der Korrelationskoeffizient nach Spearman bestimmt. Der Korrelationsquotient wurde jeweils für die FSEE-Konzentration und die konsumierte Alkoholmenge für die zurückliegenden 14, 28, 56 und 90 Tage ermittelt.

*Tabelle 9: Spearman Korrelationsquotient für die FSEE-Konzentration und die konsumierte Alkoholmenge der zurückliegenden 14, 28, 56, und 90 Tage*

		14 Tage	28 Tage	56 Tage	90 Tage
FSEE	Korrelation n.	0,224	<b>0,453</b>	<b>0,461</b>	0,343
Konzentration	Spearman				
	p-Wert	0,282	<b>0,023</b>	<b>0,020</b>	0,093

Tabelle 10 zeigt, dass die FSEE Konzentration im Haar am stärksten mit der Alkoholmenge, die in den vorangegangenen 56 Tagen aufgenommen wurde, korreliert ( $p=0,020$ ). Auch die aufgenommene Alkoholmenge der vergangenen 28 Tage zeigt einen, wenn auch geringeren signifikanten Zusammenhang ( $p=0,023$ ).

Tabelle 10: Lineare Regression mit der abhängigen Variable a) logEtG bzw. b) logFSEE, der unabhängigen Variable log28D bzw. log56D und dem MELD-Score als Kovariate

FSEE (logFSEE) MELD (Kontrollvariable) Log28D	Regressionskoeffizient <0,01 0,044	T 0,111 2,408	Sign. 0,913 <b>0,025</b>
EtG (logEtG) MELD (Kontrollvariable) Log28D	Regressionskoeffizient 0,052 0,351	T 1,646 1,932	Sign. 0,114 0,066
FSEE (logFSEE) MELD (Kontrollvariable) Log56D	Regressionskoeffizient 0,001 0,031	T 0,427 2,365	Sign. 0,673 <b>0,027</b>
EtG (logEtG) MELD (Kontrollvariable) Log56D	Regressionskoeffizient 0,069 0,427	T 2,592 3,958	Sign. 0,017 <b>0,001</b>

### 3.2.4 Vergleich der EtG- mit der FSEE- Konzentration im Haar

Bei 7 Haarproben (28%) wurde bei einem negativen Ergebnis für EtG (cEtG <7 pg/mg) eine FSEE Konzentration von >0,200ng/mg nachgewiesen. 12 % der Proben (3 Proben) wurden negativ auf FSEE und positiv auf EtG getestet. Beim exakten Test nach Fischer zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang ( $p=0,411$ ). Beide Variablen sind voneinander unabhängig.

Tabelle 11: Verteilung der EtG- und FSEE-Konzentrationen in den untersuchten Haarproben

EtG (pg/mg)	FSEE (ng/mg)	
	< 0,2	> 0,2
< 7	10	7
> 7	3	5

### 3.3 Beschreibung der Testgüte anhand der ROC-Analyse

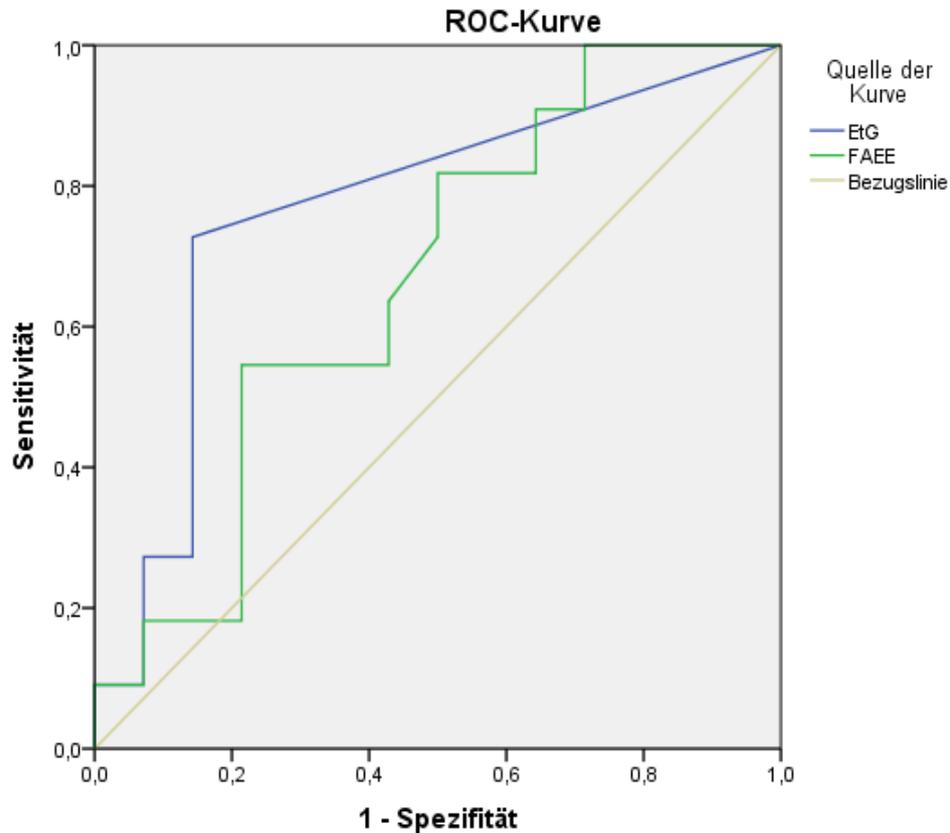


Abbildung 7: ROC-Analyse

Tabelle 12: ROC-Analyse mit Darstellung der Spezifität und Sensitivität bei unterschiedlichen Cut-off-Werten

	EtG (pg/mg)	FSEE (ng/mg)
Cut-Off	<b>1 (0,727/ 0,143)</b>	0,099 (0,818/ 0,571)
(Sensitivität/1-Spezifität)	4 (0,636/ 0,143)	<b>0,118 (0,818/ 0,500)</b>
	11,5 (0,545/ 0,429)	0,125 (0,727/ 0,500)
		0,162 (0,636/ 0,429)
		0,207 (0,545/ 0,429)
		0,296 (0,455/ 0,214)
AUC (95%KI)	0,766 (0,566-0,967)	0,666 (0,451-0,880)

Bei einem Cut-off-Wert für EtG von 1 pg/mg zeigt die ROC-Analyse eine Sensitivität von 0,727 und eine Spezifität von 0,857. Der optimale Cut-off-Wert für FSEE betrug 0,118 ng/mg. Die Testgüte (AUC) für EtG betrug 0,766, die Kurve lag deutlich oberhalb der Winkelhalbierenden (Bezugslinie). Für FSEE betrug die AUC 0,666.

Werden die oben genannten Cut-off-Werte verwendet ergeben sich folgende Ergebnisse:

*Tabelle 13: Zusammenhang zwischen der EtG- und der FSEE-Konzentration im Haar und den gewählten Cut-off-Werten*

	Positive Alkoholanamnese	Negative Alkoholanamnese
cEtG >1 pg/mg	7	2
cEtG <1 pg/mg	4	12
	Positive Alkoholanamnese	Negative Alkoholanamnese
FSEE >0,2 ng/mg	6	6
FSEE <0,2 ng/mg	5	8

Bei einem Cut-off von 1pg/mg konnte eine weitere Person als richtig positiv erkannt werden. Der exakte Test nach Fischer liefert ein signifikantes Ergebnis.

### 3.4 Lebertransplantation und Outcome

Vom gesamten Patientenkollektiv (n=25) wurde bei insgesamt 9 Patienten eine orthotope Lebertransplantation erfolgreich durchgeführt (Nachbeobachtungszeitraum: 2 Jahre). 6 Patienten, die eine Lebertransplantation erhielten, zählten zu der Gruppe ohne anamnestischen Alkoholkonsum, 4 der Patienten gaben beim Einschluss in die Studie an, Alkohol konsumiert zu haben. Im weiteren Verlauf erhielten insgesamt 3 Patienten mit einem positiven Nachweis von EtG (>7pg/mg) und FSEE (>0,2ng/mg) und 1 Patient mit einem alleinigen positiven Nachweis von FSEE im Haar eine Lebertransplantation.

*Tabelle 14: Zusammenhang zwischen der EtG- und FSEE-Konzentration im Haar und einer anschließenden Lebertransplantation*

	Patienten ohne Lebertransplantation	Patienten mit Lebertransplantation
EtG >7pg/mg	5	3
EtG <7pg/mg	11	6
	Patienten ohne Lebertransplantation	Patienten mit Lebertransplantation
FSEE >0,2ng/mg	8	4
FSEE <0,2ng/mg	8	5

Die Odds-Ratio der Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Transplantation bei negativem EtG-Nachweis betrug 1,10 und bei negativem FSEE-Nachweis 0,8.

Bei 5 der insgesamt 9 transplantierten Patienten (45%) war eine äthyltoxische Leberzirrhose der Grund für die Lebertransplantation. Hepatitis C (2 Patienten) sowie die Leberzirrhose unklarer Genese (2 Patienten) stellten die Indikation der restlichen 4 Lebertransplantationen dar. Die Transplantationen erfolgten in dem Zeitraum nach der Studienteilnahme bis September 2012. Zwei Patienten befanden sich noch auf der Warteliste. In diesem Beobachtungszeitraum sind insgesamt zwei Patienten verstorben. Ein Patient erhielt zuvor eine Lebertransplantation. Keiner der beiden verstorbenen Patienten litt an einer äthyltoxischen Leberzirrhose.

## **4 Diskussion**

Die vorliegende Studie befasst sich mit dem Nutzen von Alkoholbiomarkern in Haar in Bezug auf den Nachweis von Alkoholkonsum in den vergangenen 3 Monaten bei Patienten mit einer schweren Lebererkrankung. Untersuchungsgegenstand war, ob bei Patienten mit einer schweren Lebererkrankung ein Zusammenhang zwischen dem Alkoholkonsum der letzten 90 Tage und der Konzentration der Alkoholbiomarker EtG und FSEE im Haar vorliegt. Dazu wurden 25 Haarproben von leberinsuffizienten Patienten mit und ohne anamnestischen Alkoholkonsum analysiert und die konsumierte Alkoholmenge der letzten 90 Tage erfragt. Die Haaranalyse der gewonnenen Haarproben erfolgte im Institut für Gerichtsmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin nach den von Pragst et al. 2001 und Yegles et al. 2004 beschriebenen Methoden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind im Einklang mit den Ergebnissen früherer Studien mit anderen Studienpopulationen und verdeutlichen das Potential der Alkoholbiomarker im Haar für die Zukunft.

In der Studie konnte gezeigt werden, dass die EtG Konzentration im Haar am stärksten mit der in den letzten 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge korreliert. Für den Alkoholbiomarker FSEE konnte die größte Korrelation zwischen der Konzentration im Haar und der aufgenommenen Alkoholmenge für die letzten 28 Tagen nachgewiesen werden.)

## 4.1 Kombinierte Interpretation von FSEE und EtG

### 4.1.1 Einlagerungsmechanismus und Stabilität von FSEE und EtG im Haar

Nach aktuellem Wissensstand erfolgt die Einlagerung der lipophilen **FSEE** durch im Sebum gelöste Stoffe oder Sebumbestandteile, welche durch Diffusion ins Haar gelangen und sich dort ablagern.

Prinzipiell kommen für FSEE drei unterschiedliche Einlagerungsmechanismen in Frage:

- In den Talgdrüsen entstehen FSEE aus Ethanol und lagern sich nachträglich über das Haar umhüllendes Sebum ein.
- Die FSEE werden durch Veresterung mit Ethanol in den Basalzellen gebildet oder gelangen direkt über den Blutkreislauf oder durch Diffusion aus dem angrenzenden Hautgewebe in die Basalzellen.
- Analog zu dem Einlagerungsmechanismus vieler Drogen gelangen die FSEE über den Blutkreislauf direkt in die Haarwurzeln und werden so in die keratisierenden Zellen eingeschlossen.

Vorangegangene Studien zeigen, dass bei vorherigem exzessiven Alkoholkonsum FSEE bis zu 28 Tage im Sebum nachzuweisen ist und es in dieser Zeit, auch wenn kein weiterer Alkohol konsumiert wurde, zu einer weiteren Aufnahme von FSEE ins Haar kommen kann (Pragst et al. 2004). Da es sich bei FSEE um lipophile Substanzen handelt, ist die Einlagerung über den Schweiß unwahrscheinlich.

Da **EtG** eine hydrophile Carbonsäure ist, die im physiologischen pH im anionischen Zustand vorliegt, ist die Neigung zur Einlagerung in die Zellen der Haarwurzel gering. Nach dem aktuellen Wissensstand wird davon ausgegangen, dass EtG in den Leberzellen gebildet wird und über Schweiß in das Haar diffundiert (Schummer et. al 2008).

Bei dieser Theorie ist allerdings nicht nur die Konzentration von EtG im Schweiß sondern auch die Schweißmenge zu berücksichtigen. Das Schweißvolumen pro cm<sup>2</sup> hängt stark von der individuellen Schweißproduktion, der Außentemperatur und physikalischer Betätigung ab.

Insgesamt ist festzustellen, dass die Inkorporation von EtG in das Haar über die Diffusion von Schweiß unbeständig ist und im Vergleich mit Einlagerungsmechanismen über das

Blut eine geringe Reproduzierbarkeit aufweist. Aufgrund seiner hydrophilen Eigenschaften und der hohen Azidität liegt EtG in der Haarmatrix nicht an Melanin gebunden vor. Somit ist es möglich, die Konzentration im Haar durch häufiges Waschen der Haare zu verringern. Dies erklärt auch die nachgewiesene Abnahme der EtG-Konzentration von proximal nach distal in einem Haarsegment (Pragst et al. 2010).

Ein negatives Testergebnis für den Nachweis von EtG in Kombination mit einem positiven Nachweis von FSEE könnte somit aufgrund der physikalischen Eigenschaften des Biomarkers bedingt sein. In einigen Haarproben von Kindern und strikt abstinenten Personen konnte bei früheren Analysen ebenfalls eine minimale Konzentration von FSEE nachgewiesen werden (Pragst et al. 2001). Der Grund für diese kleinen Mengen an FSEE konnte bisher noch nicht eindeutig erklärt werden. Eine mögliche Ursache könnte die Ablagerung von endogenem Ethanol und Ethanolspuren in der täglichen Nahrung oder ethanolhaltigen Haarpflege- oder Stylingprodukten sein. Die regelmäßige Verwendung von ethanolhaltiger Haarkosmetik kann gegebenenfalls zu falsch positiven Ergebnissen führen.

EtG sowie FSEE entstehen als direkte Abbauprodukte des Alkoholmetabolismus im Körper. Da sich beide Marker bezüglich ihrer Bildung, Elimination, Beeinflussung durch Haarpflegegewohnheiten und in ihrer Nachweismethodik unterscheiden, lassen sich bei einer kombinierten Interpretation beider Alkoholmarker falsch negative Ergebnisse minimieren und die Aussagesicherheit und Genauigkeit in Bezug auf den vorangegangenen Alkoholkonsum deutlich erhöhen. Falsche Ergebnisse, die zum größten Teil durch biologische Variationen im Alkoholmetabolismus und durch analytische Fehler entstehen, können bei der gemeinsamen Beurteilung beider Parameter verringert werden (Pragst et al. 2010).

#### 4.1.2 Wahl der Cut-off-Werte für FSEE und EtG

Als Grundlage der Interpretation der Konzentration von FSEE und EtG im Haar anhand von Cut-off-Werten dient die Annahme, dass ein klarer Bezug zwischen der Alkoholaufnahme und der Konzentration beider Ethanolmetaboliten im Haar vorliegt. Beim Treffen der Society of Hair Testing im Jahre 2009 wurde durch statistische Auswertungen die positive Korrelation zwischen dem täglichen Alkoholkonsum und der Konzentration von FSSE und EtG im Haar bestätigt: Eine höhere Ethanoldosis führt

demnach zu einer höheren Konzentration von FSEE und EtG im Haar (Appenzeller et al. 2007; Auwaerter et al., 2001). Trotz einer angemessenen Wahl der Cut-off-Werte konnten falsch positive oder falsch negative Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden.

Kleine Mengen FSEE bis  $< 0,2$  ng/mg konnten im Haar von Kindern und Abstinenzlern nachgewiesen werden. Durch alkoholhaltige Haarpflegeprodukte ist eine Inkorporation von FSEE in die Haarmatrix möglich. Aus diesem Grund wird bei einer Konzentration von  $< 0,2$  ng/mg von einer Alkoholabstinenz ausgegangen (Albermann et al. 2010; Auwaerter et al., 2001). Für EtG wurde ein Cut-off Wert von 30 pg/mg gewählt. Eine Abstinenz kann bei Werten  $> 7$  pg/mg ausgeschlossen werden (Albermann et al. 2010).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass dies die erste Studie in Deutschland ist, die den Zusammenhang zwischen der aufgenommenen Alkoholmenge der letzten 90 Tage und der Alkoholbiomarkerkonzentration von EtG und FSEE im Haar von Patienten mit schwere Lebererkrankung untersucht.

In dieser Studie ermittelten wir als optimalen Grenzwert für EtG 1ng/mg und für FSEE 0,118pg/mg.

#### 4.1.3 Korrelation zwischen der nachgewiesenen EtG- und FSEE-Konzentration

Verschiedene Studien zeigten, dass keine oder nur eine geringe quantitative Korrelation zwischen der EtG- und FSEE-Konzentration im Haar besteht (Pragst et al., 2010; Pragst & Yegles, 2008; Pragst et al., 2010). In der vorliegenden Studie bestätigt sich diese Beobachtung, es konnte keine Korrelation zwischen der gemessenen EtG- und der gemessenen FSEE- Konzentration nachgewiesen werden.

#### 4.2 Alkoholbiomarker im Haar bei eingeschränkter Nierenfunktion

Ebenso sollte berücksichtigt werden, dass es bei einer eingeschränkten Nierenfunktion zu einer geminderten Clearance der Alkoholbiomarker EtG und FSEE kommen könnte. Somit würden sich die Konzentration der Biomarker im Serum und damit auch die Konzentration im Haar erhöhen. Die Nierenfunktion ist daher bei der Interpretation der

Ergebnisse stets mit zu berücksichtigen. In dieser Studie ließ sich kein Zusammenhang zwischen dem Serumkreatinin und der Alkoholbiomarkerkonzentration nachweisen.

#### 4.3 Korrelation zwischen dem Alkoholkonsum der letzten 90 Tage und EtG im Haar

In einer ähnlichen Arbeit aus Amerika wurde ebenfalls der Zusammenhang zwischen dem Alkoholbiomarker EtG im Haar und der konsumierten Alkoholmenge in den vergangenen 90 Tagen untersucht. Bis auf das deutlich größere Studienkollektiv (n=200) unterscheidet sich das Studienprotokoll nicht wesentlich von der vorliegenden Studie. Insgesamt zeigte sich nur eine moderate Korrelation zwischen der EtG-Konzentration im Haar und der gesamten aufgenommenen Alkoholmenge der letzten 90 Tage. Somit ist die Aussagekraft des Alkoholmarkers in Bezug auf die gesamte konsumierte Alkoholmenge der letzten 90 Tage eingeschränkt. Laut Stewart et al. ist jedoch eine EtG-Konzentration von > 8pg/ng im Haar mit hoher Sensitivität und Spezifität mit einem Konsum von > 28g reinen Alkohols pro Tag während der vergangenen 90 Tagen assoziiert (Stewart et al.2013). In der vorliegenden Studie wies ein Patient mit einem täglichen Alkoholkonsum von > 28g reinen Alkohol eine EtG-Konzentration von 36 pg/ng im Haar auf.

#### 4.4 Lebertransplantation und alkoholische Lebererkrankung

Die alkoholinduzierte Lebererkrankung zählt in Europa und den USA zu einer der häufigsten Indikationen für eine orthotope Lebertransplantation.

In einer Vielzahl von Studien zeigte sich, dass Outcome und Überlebensraten nach einer Lebertransplantation bei Patienten mit alkoholbedingter Lebererkrankung vergleichbar mit denen von Patientengruppen mit Lebererkrankungen anderen Ätiologien sind (O'Grady 2006). Eine österreichische Studie zeigte, dass nur etwa 5 % der Patienten mit alkoholischer Lebererkrankung nach einer Lebertransplantation versterben (Berlakovich 2005).

## 4.5 Alkoholbiomarker im Haar und Lebertransplantation

Es lässt sich festhalten, dass 10 Studienteilnehmer im weiteren Verlauf eine Lebertransplantation erhielten. Für 3 dieser 10 Patienten war zum Zeitpunkt der Haarprobenentnahme der Nachweis von EtG im Haar positiv. Allerdings bedeutet dies nicht zwingend, dass die Patienten innerhalb der geforderten 6-monatigen Alkoholabstinenzphase Alkohol konsumiert haben. Die Zeitspanne zwischen Studieneinschluss und Lebertransplantation reicht von dem Zeitpunkt des Studieneinschlusses bis September 2012. Ein Outcome-relevanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von EtG im Haar und einer erfolgreichen Lebertransplantation konnte somit nicht nachgewiesen werden. Hierfür wäre allerdings auch eine höhere Fallzahl und strengere Nachverfolgung (Follow-Up) der Patienten erforderlich gewesen. Andere Studien, die diesen Zusammenhang untersuchten, existieren bislang nicht.

## 4.6 Methodendiskussion

Im Zeitraum von Juli 2008 bis Februar 2011 wurden insgesamt 30 Patienten für die Studie gescreent. Letztendlich erfüllten 25 Patienten die Einschlusskriterien und konnten in die Studie aufgenommen werden.

Eine Fallzahlkalkulation war nicht möglich, da es sich bei dieser Studie um ein Pilotprojekt handelt und bislang keine Daten in diesem Forschungsbereich vorlagen.

### 4.6.1 Selbstangaben zum vorherigen Alkoholkonsum

Einen wichtigen Teil dieser Studie stellte die Selbstausskunft der Studienteilnehmer bezüglich des exakten Alkoholkonsums der vergangenen 90 Tage dar.

Dies wurde in einem Interview mithilfe des Timeline Followback- und AUDIT-Fragebogens durchgeführt. Die alleinige Erfassung der konsumierten Menge reinen Alkohols mittels Selbstausskunft muss in der Interpretation der Daten aus folgenden Gründen beachtet werden. So kann die Selbstausskunft des Patienten aufgrund von Verleugnung als suchttypisches Verhalten oder aus Angst vor therapeutischen Konsequenzen von der Realität abweichen. In früheren Studien zeigte sich, dass Patienten, die unter einem Alkoholabusus leiden, dazu neigen, die eigenen Trinkgewohnheiten in Bezug auf Menge,

Häufigkeit und Dauer zu minimieren und zu verschönern (Gramenzi et al., 2011; Orrego et al., 1979).

Trotz alledem weist die Diagnostik mittels validierten Interviews und Fragebögen im Vergleich zu den herkömmlichen klinischen und laborchemischen Tests eine größere Effektivität auf.

Für den CAGE-Fragebogen konnte eine höhere Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu standardisierten laborchemischen Tests nachgewiesen werden (Gramenzi et al. 2011). In verschiedenen Studien wurde die Überlegenheit des AUDIT-Fragebogens gegenüber den herkömmlichen indirekten Biomarkern wie MCV und GGT zur Erfassung des Alkoholkonsums bestätigt (Aertgeets et al. 2001; Neumann et al. 2009).

#### 4.6.2 Verwendung von Haaren anderer Körperstellen

In der vorliegenden Studie wurde in einem Fall aufgrund von mangelndem Kopfhaar Achselhaar zur Haaranalyse verwendet. Mit Ausnahme von Schamhaar, bei dem die EtG-Konzentration im Vergleich zum Kopf- und anderem Körperhaar höher war, kann jegliche Art der Körperbehaarung zur Analyse von EtG herangezogen werden (Hartwig und Auwärter V, 2003; Kerekes et al. 2009). Für den Alkoholbiomarker FSEE ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Laut den Ergebnissen von Süsse und Kollegen (Süsse et al., 2010) ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der FSEE-Konzentration im Kopfhaar, Achselhaar oder in Haaren anderer Körperregionen.

Es ist demnach nicht von einer Beeinflussung der Ergebnisse durch die Verwendung von Achselhaar zur Analyse auszugehen.

#### 4.6.3 Standardisierung der Untersuchungen von unterschiedlichen Haarlängen

Die Haarlänge der Studienteilnehmer variierte in der vorliegenden Studie. Da sich der Untersuchungszeitraum auf die letzten 90 Tage vor Studieneinschluss bezieht und davon ausgegangen wird, dass Kopfhaar im Durchschnitt 1 cm pro Monat wächst, war eine Haarlänge von 3 cm für die Haaranalyse ausreichend. Längere Haarsegmente wurden vor der Haaranalyse auf 3 cm gekürzt, kürzere Haarsegmente wurden komplett analysiert. Der Nachteil eines sehr kurzen Haarsegments liegt darin, dass nur Aussagen über eine kurze Zeitspanne und somit unzureichende Aussagen über den Alkoholkonsum gemacht werden können. Zum Beispiel könnte eine einmalige Phase exzessiven

Alkoholkonsums zu einer sehr hohen Konzentration an Alkoholbiomarkern im Haar führen, die auch durch Phasen der Abstinenz nicht ausreichend kompensierbar wären. Dieser Aspekt sollte bei der Ergebnisinterpretation von Analysen besonders kurzer Haarsegmenten berücksichtigt werden.

#### 4.6.4 Haarpflegegewohnheiten

In der vorliegenden Studie wurden die Haarfarbe und Haarpflegegewohnheiten der Studienteilnehmer bei Einschluss in die Studie erfragt und dokumentiert.

In verschiedenen Studien konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Haarfarbe und der FSEE- und EtG-Konzentration nachgewiesen werden (Appenzeller et al. 2007; Pragst et al. 2010). Aggressive Haarkosmetik, wie Blondierungen, Färbungen und Dauerwellen hingegen bewirken eine Verminderung der FSEE- und EtG-Konzentration im Haar und können so zu falsch negativen Ergebnissen führen (Hartwig und Auwärter 2003b; Morini et al. 2009). Das Waschen der Haare in einem gewöhnlichen Ausmaß beeinflusst die FSEE- Konzentration nicht (Hartwig und Auwärter 2003).

Durch regelmäßige Anwendung von alkoholhaltigen Haarpflegeprodukten ist eine Anreicherung im Haar möglich, was zu einer erhöhten Konzentration von FSEE im Haar führen kann.

#### 4.6.5 Alkoholbiomarker und Körpergewicht

Bisher ist unklar, ob es einen direkten Zusammenhang zwischen der Bildung und Einlagerung von FSEE im Haar und dem Körpergewicht bzw. Body-Mass-Index gibt. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass sich FSEE nach einem über einen längeren Zeitraum konstant andauernden exzessiven Alkoholkonsum im Fettgewebe anlagern. In folgenden Phasen der Abstinenz kann eine Anreicherung im Haar aus diesem Speicher erfolgen (Süsse et al. 2010). Somit wäre denkbar, dass es bei vermehrtem Körperfett zu einer erhöhten Speicherung von FSEE kommen könnte. In früheren Studien zeigte sich jedoch, dass das Körpergewicht keinen Einfluss auf die FSEE-Konzentration im Haar hat (Süsse et al. 2010).

## 5 Zusammenfassung

Die alkoholbedingte Leberzirrhose stellt eine anerkannte Indikation für eine orthotrope Lebertransplantation dar. Mit etwa 40% zählt sie zu einem der häufigsten Gründe für eine Lebertransplantation (Gramenzi et al. 2011). In zahlreichen Studien konnte ein vergleichbares oder sogar besseres Outcome im Langzeitverlauf im Vergleich zu Hepatitis C beobachtet werden (Lucey 2011). Um für eine Lebertransplantation zugelassen zu werden, werden eine gute Compliance und eine sechsmonatige Alkoholabstinenz vorausgesetzt. Bisher existieren jedoch keine verlässlichen Verlaufsparemeter zur Beurteilung und Überprüfung der Alkoholabstinenz. In den Transplantationszentren erfolgt die Langzeitabstinenzprüfung für gewöhnlich durch eine Kombination aus Befragung des Patienten und der Beurteilung von Laborparametern. Diese herkömmlichen Biomarker, beispielsweise GGT, Transaminasen und MCV, sind jedoch unspezifisch in Bezug auf den Alkoholkonsum in diesem Patientenkollektiv. Es besteht daher großes Interesse, weitere Alkoholbiomarker mit größerer Spezifität und Sensitivität zu finden, oder das diagnostische Zeitfenster zu erweitern. In den vergangenen Jahren rückten die direkten Alkoholbiomarker im Haar, FSEE und EtG, vermehrt in den Focus der Forschung und lieferten in Validierungsstudien bereits vielversprechende Ergebnisse (Appenzeller et al. 2007; Hartwig und Auwärter 2003b; Morini et al. 2009; Pragst und Yegles, 2008). Bislang lagen jedoch keine Studien und Untersuchungen der Biomarker bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung vor.

Ziel dieser nicht-interventionellen Beobachtungsstudie war es, den Zusammenhang zwischen der aufgenommenen Alkoholmenge und der Alkoholbiomarkerkonzentration im Haar bei Patienten mit einer schweren Lebererkrankung zu untersuchen. Nach Zustimmung der Ethikkommission sowie mündlicher und schriftlicher Einwilligung der Studienteilnehmer wurden in einem Zeitraum von Juli 2008 bis Februar 2011 insgesamt 25 Patienten mit einer schweren Lebererkrankung eingeschlossen. Die Patienten litten zum Teil an alkoholischen als auch an nicht-alkoholischen Lebererkrankungen. In 44% der Fälle war die äthyltoxische Leberzirrhose die Ursache der Lebererkrankung, der mittlere MELD-Score lag bei 14,5 Punkten. Mittels eines standardisierten Verfahrens wurden die Studienteilnehmer nach ihrer Alkoholtrinkmenge der vergangenen 90 Tage befragt. Eine Haarprobe wurde entnommen und im Institut für Gerichtsmedizin der

Charité – Universitätsmedizin Berlin, nach dem von Pragst et al. 2001 beschriebenen Verfahren analysiert.

In Bezug auf die Ausgangsfrage dieser Arbeit ergeben sich folgende Ergebnisse: Die EtG-Konzentration im Haar korreliert signifikant mit der in den letzten 90 Tagen aufgenommenen Alkoholmenge. Somit stellt die Messung der EtG-Konzentration im Haar bei Patienten mit Lebererkrankung eine gute Möglichkeit dar, um die langfristige Alkoholaufnahme (d. h. der letzten 90 Tage) zu überwachen.

Bei der MELD-Score-adjustierten partiellen Korrelation zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der konsumierten Alkoholmenge in den letzten 90 Tagen und der EtG-Konzentration im Haar. Zudem zeigte sich, dass die FSEE-Konzentration im Haar signifikant mit der aufgenommenen Alkoholmenge der vergangenen 28 und 56 Tage korreliert. Dieser Alkoholbiomarker ist demnach besser geeignet, um einen kürzeren Zeitraum zu überprüfen. Es zeigten sich zudem interindividuelle Unterschiede in der konsumierten Alkoholmenge in Gramm und der Alkoholbiomarkerkonzentration im Haar. Insgesamt konnten aber im Vergleich beider Alkoholmarker ähnliche quantitative Ergebnisse beobachtet werden. Eine Korrelation zwischen der FSEE- und EtG-Konzentration konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

Neben dem individuellen Alkoholmetabolismus spielen unter anderem das Haarwachstum, die Sebumproduktion, die Lipidaufnahmekapazität der Haare sowie die Haarpflegegewohnheiten eine große Rolle und können das Ergebnis beeinflussen. Durch die Festlegung eines bestimmten Cut-off-Wertes besteht immer das Risiko, falsch positive und falsch negative Ergebnisse zu erhalten. Um eine bessere Aussagekraft über den vorangegangenen Alkoholkonsum zu erzielen, bietet sich die kombinierte Analyse beider hier untersuchter Alkoholbiomarker an.

Grundsätzlich lässt sich festhalten, dass sowohl EtG als auch FSEE als qualitative Marker für erhöhten chronischen Alkoholkonsum geeignet sind. Jedoch sollten die Ergebnisse der Haaranalyse für jeden einzelnen Patienten in Zusammenschau mit weiteren Laborparametern und unter Berücksichtigung der Haarpflegegewohnheiten und Haarlänge interpretiert werden. Zusammenfassend stellt die nicht-invasive Methode der Haaranalyse zum Nachweis der Alkoholbiomarker EtG und FSEE einen wichtigen Beitrag in Bezug auf die Langzeitabstinenzprüfung vor einer Lebertransplantation dar.

Im Gegensatz zu den anderen gängigen Alkoholmarkern im Serum weist die nicht-invasive Haaranalyse ein deutlich längeres diagnostischen Zeitfenster auf und deckt so im Vergleich mit den üblichen Alkoholmarkern (CDT, MCV, GGT) ein komplementäres Zeitfenster des Konsumnachweises ab. Durch dieses Verfahren ist es möglich, den bis zu mehreren Monaten vorangegangenen Alkoholkonsum zu detektieren. Die Analyse der Alkoholmarker im Haar kann vor allem in Fällen, bei denen auf Grund von Lebererkrankungen bereits erhöhte Leberwerte vorliegen und somit eine Interpretation von beispielsweise GGT nicht aussagekräftig ist, wertvolle Hinweise liefern. So könnte diese Methode in Zukunft zu einer gerechteren Verteilung der geringen Anzahl an Spenderorganen führen.

Einschränkend ist zu erwähnen, dass es sich bei der vorliegenden Studie um ein kleines Patientenkollektiv handelt. Aus diesem Grund ist eine weitere Studie mit einem größeren Patientenkollektiv zur Überprüfung der bisherigen Ergebnisse und angegebenen Zusammenhänge sinnvoll.

## 6 Literaturverzeichnis

- Aderjan, R. (2000). *Marker missbräuchlichen Alkoholkonsums. Klinische und rechtliche Bedeutung* (Vol. 2000). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- Aertgeets, B., Buntinx, F., Ansoms, S., & Fevery, J. (2001). Scening properties of questionnaires and laboratory tests for the detection of alcoholabuse or dependence in a general practice population. *Br J Gen Pract*, (51), 206-217.
- Albermann, M. E., Musshoff, F., & Madea, B. (2010). Comparison of ethyl glucuronide (EtG) and fatty acid ethyl esters (FAEEs) concentrations in hair for testing abstinence. *Analytical and bioanalytical chemistry*. doi: 10.1007/s00216-010-4443-8.
- Albermann M, Musshoff F, Doberentz E, Heese P, Banger M, Madea B: Preliminary investigations on ethyl glucuronide and ethyl sulfate cutoffs for detecting alcohol consumption on the basis of an ingestion experiment and on data from withdrawal treatment. *Int J Legal Med* 2012; 126: 757–64
- Alling, C, Gustavsson, L., Mansson, J., Benthin, G., & Anggard, E. (1984). Phosphatidylethanol formation in rat organs after ethanol treatment. *Biochim. biophys Acta*, 793, 119-122.
- Alt, A., Janda, I., Seidl, S., & Wurst, F. (2000). Determination of ethyl glucuronide in hair samples. *Alcohol Alcohol*, 35, 313-314.
- Appenzeller, B. M., Schuman, M., Yegles, M., & Wenning, R. (2007). Ethyl glucuronide concentration in Hair is not influenced by pigmentation. *Alcohol Alcohol*, 42, 326-327.
- Auwaerter, V., Sporkert, F., Hartwig, S., Pragst, F., Vater, H., & Diefenbacher, A. (2001). fatty acid ethyl esters in hair as markers of alcohol consumption. Segmental hair analysis of alcoholics, social drinkers, and teetotalers. *Clin. Chem.*, 47, 2114-2123.
- Babor, T. F., Higgins-biddle, J. C., Saunders, J. B., & Monteiro, M. G. (2001). The Alcohol Use Disorders Identification Test. *World Health Organisation*, (2).
- Berlakovich. (2005). Wasting your organ with your lifestyle and receiving a new one? *Annals of Transplantation*, 10, 38-43.
- Böcker W, Denk H, Heitz PU, M. H. (2008). *Pathologie* (4th ed.). Urban& Fischer Verlag, Elsevier GmbH.
- Dahl, H., Stephanson, N., Beck, O., & Helander, A. (2002). Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol an ethyl glucuronide. *Anal. Toxicol.*, 26, 201-204.
- Deutsche Stiftung Organtransplantation 2012 [online]. Verfügbar unter:<http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/transplantation/lebertransplantation.html> [19.12.2013].
- Deutsche Stiftung Organtransplantation 2019 [online]. Verfügbar unter:<https://www.dso.de/organspende/statistiken-berichte/organtransplantation> [13.10.2020].

- Dimartini, A., Day, N., Dew, M. A., Javed, L., Fitzgerald, M. G., Jain, A., Fung, J. J., Fontes, P. (2006). Alcohol Consumption Patterns and Predictors of Use Following Liver Transplantation for Alcoholic Liver Disease. *Liver Transplantation*, 12(5), 813-820. doi: 10.1002/lt.
- DiMartini AF, Steel J, De Vito Dabbs A, Myaskovsky L, Unruh M, Greenhouse J. (2008) Meta-analysis of risk for relapse to substance use after transplantation of the liver or other solid organs. *Liver Transpl.* Feb;14(2):159-72
- Dous, A., & Neuberger, J. (1998). Liver transplantation for alcoholic cirrhosis: current situation. *Hospital Medicine*, 59, 604-605.
- Goldmann, A., Jahn, L., Neumann, T., Stewart, S., Spies, C. (2011) Alkohol Biomarker im Haar bei Patienten mit Lebererkrankung – eine Pilotstudie. *Wissenschaftliches Poster beim Suchtkongress 2011*
- Gramenzi, A., Gitto, S., Caputo, F., Biselli, M., Lorenzini, S., Bernardi, M., Andreone, P. (2011). Liver transplantation for patients with alcoholic liver disease : An open question. *Digestive and Liver Disease*, 43(11), 843-849. Editrice Gastroenterologica Italiana. doi: 10.1016/j.dld.2011.03.011.
- Hartmann, S., Aradottir, S., Graf, M., Wiesbeck, G., Lesch, O., Ramskogler, K., Wolfsdorf, M., Alling, C., Wurst, F.M. (2007). Phosphatidylethanol as a sensitive and specific biomarker: comparison with gamma-glutamyl transpeptidase, mean corpuscular volume and carbohydrate-deficient transferrin. *Addiction biology*, 12(1), 81-4. doi: 10.1111/j.1369-1600.2006.00040.x.
- Hartwig S, Auwärter V, P. F. (2003a). Fatty acid ethyl esters in scalp hair, pubic, axillary, beard and body hair as a marker for alcohol misuse. *Alcohol Alcohol*, 38, 163-167.
- Hartwig S, Auwärter V, P. F. (2003b). Effect of hair care and hair cosmetics on the concentrations of fatty acid ethyl esters in hair as markers of chronically elevated alcohol consumption. *Forensic Sci Int.*, 131(2-3), 90-97.
- Hasin D, Hatzenbuehler M, Katherine Keyes K, Ogburn E, (2006). Substance use disorders: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition (DSM-IV) and International Classification of Diseases, tenth edition (ICD-10). *Addiction*, 101, Issue Supplement s1, 59–75
- Helander A, Böttcher M, Fehr C, Dahmen N, Beck O. (2009) Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol* 2009; 44: 55–61
- Herold G, Innere Medizin. Herold G. Köln, 2012 S.902-906
- Høiseth, G., Morini, Luca, Poletti, Aldo, Christophersen, A., & Mørland, J. (2009). Blood kinetics of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Forensic Science International*, 188, 52-56. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.03.017.
- Høiseth, G., Paul, J., Karinen, R., Johnsen, L., Helander, Anders, Christophersen, A. S., Mørland, J. (2007). A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine:

- Applications to forensic toxicology. *Forensic Sci Int.*, 172, 119-124. doi: 10.1016/j.forsciint.2007.01.005.
- Jain AB, Fung JJ. Alcoholic liver disease and transplantation. *Transplantation Proceedings*. 2003 Feb; 35 (1): S.358-360.
- Jatlow PI, Agro A, Wu R, Nadim H, Toll BA, Ralevski E, Nogueira C, Shi J, Dziura JD, Petrakis IL, O'Malley SS. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate assays in clinical trials, interpretation, and limitations: results of a dose ranging alcohol challenge study and 2 clinical trials. *Alcohol Clin Exp Res*. 2014 Jul;38(7):2056-65.
- Johann, B., & Erim, Y. (2001). Psychosomatische Betreuung von Transplantationspatienten. Fakten und Notwendigkeiten. *Medizinische Psychologie*, 51(12), 438-446.
- Kerekes, I., Yegles, M., Grimm, U., & Wennig, R. (2009). Ethyl glucuronide determination: head hair versus non-head hair. *Alcohol Alcohol*, 44, 62-66.
- Konnopka A., K. H. (2007). Direct and Indirect Costs Attributable to Alcohol Consumption in Germany. *Pharmacoeconomics*, 25(7), 605-618.
- Laposata, M. (1998). Fatty acid ethyl esters: ethanol metabolites which mediate ethanol-induced organ damage and serve as markers of ethanol intake. *Progress in Lipid Research*, 37(5), 307-316.
- Laposata, M., & Szczepiorkowski, Z., Brown. (1995). Fatty acid ethyl esters: non-oxidative metabolites of ethano. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, (52), 87-91.
- Lucey, M. R. (2011). Liver Transplantation in Patients With Alcoholic Liver Disease. *Liver Transplantation*, 17, 751-759. doi: 10.1002/lt.
- Lucey, M. R., Schaubel, D. E., Guidinger, M. K., Tome, S., & Merion, R. M. (2009). Effects of alcoholic liver disease and hepatitis c infection on waiting list and posttransplant mortality and transplant survival benefit. *Hepatology*, 50, 400-406. doi: 10.1002/hep.23007.
- Mc Caughan GW, Kyd G, Gribble R, S. A. (1995). Livertransplantation for alcoholic cirrhosis: outcomes and difficulties in patient selection. *Transplantation proceedings*, 3, 2147.
- McCallum, S., & Masterton, George. (2006). Liver transplantation for alcoholic liver disease: a systematic review of psychosocial selection criteria. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 41(4), 358-63. doi: 10.1093/alcalc/agl033.
- Morini, L, Politi, L, Groppi, A., Stramesi, C., & Poletini, A. (2006). Determination of ethyl glucuronide in hair samples by liquid chromatography / electrospray tandem mass spectrometry. *Mass Spectrom*, 41, 34-42.
- Morini, Luca, Politi, Lucia, & Poletini, Aldo. (2009). Ethyl glucuronide in hair . A sensitive and specific marker of chronic heavy drinking. *Addiction*, 104, 915-920. doi: 10.1111/j.1360-0443.2009.02535.x.
- Neumann, T. (2015) 'Der suchtkranke Patient in der Anästhesie. (German)', AINS: Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie, 50(6), p. 406.

- Neumann, T., Gentilello, L. M., Neuner, B., Weiss-Gerlach, E., Schürmann, H., Schröder, T., Müller, C., Haas, N.P., Spies, C.D. (2009). Screening trauma patients with the alcohol use disorders identification test and biomarkers of alcohol use. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 33(6), 970-6. doi: 10.1111/j.1530-0277.2009.00917.x.
- Orrego, H., Blendis, M., & Blake, J. (1979). Reliability of assessment of alcohol intake based on personal interviews in a liver clinic, 2, 1354-1356.
- O'Grady, J. (2006). Liver transplantation alcohol related liver disease: (deliberately) stirring a hornet's nest! *Gut*, 55(11), 1529-31. doi: 10.1136/gut.2005.090506.
- Pageaux, G., Michel, J., Coste, V., Perney, P., Possoz, P., Perrigault, P.F., Navarro, F., Fabre, J.M., Domergue, J., Blanc, P., Larrey, D. (1999). Alcoholic cirrhosis a good indication for liver transplantation, even for cases of recidivism. *Gut*, 45(3), 421-426.
- Perney, Pascal, Bismuth, M., Sigaud, H., Picot, M. C., Jacquet, E., Puche, P., Jaber, S., Rigole, H., Navarro, F., Eledjam, J.J., Blanc, F., Larrey, D., Paeaux, G.P. (2005). Are preoperative patterns of alcohol consumption predictive of relapse after liver transplantation for alcoholic liver disease? *Transplant international: official journal of the European Society for Organ Transplantation*, 18(11), 1292-7. doi: 10.1111/j.1432-2277.2005.00208.x.
- Poynard T, Aubert A, Lazizi Y , Bedossa P, H. P. (1991). Independent risk factors for hepatocellular carcinoma in french drinkers. *Hepatology*, (13), 896-902.
- Pragst, F., Auwaerter, V., Sporkert, F., & Spiegel, K. (2001). Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci Int.*, 121, 76-88.
- Pragst, F., Rothe, M., Moench, B., Hastedt, M., Herre, S., & Simmert, D. (2010). Combined use of fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide in hair for diagnosis of alcohol abuse: interpretation and advantages. *Forensic science international*, 196(1-3), 101-10. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.12.028.
- Pragst, F., & Yegles, M. (2006). *Acoholmarkers in Hair. In: Analytical and Practical Aspects of Drug Testing in Hair.* (Kintz P, Eds.) (pp. 287-323).
- Pragst, F., & Yegles, M. (2008). Determination of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in hair: a promising way for retrospective detection of alcohol abuse during pregnancy? *Therapeutic drug monitoring*, 30(2), 255-63. doi: 10.1097/FTD.0b013e318167d602.
- Roberts, M., Angus, D., Bryce, C., Valenta, Z., & Weissfeld, L. (2004). Survival after liver transplantation in the US: a disease-specific analysis of the UNOS database. *Liver Transplantation*, 10(7), 886-897.
- Schmitt, G., Droenner, P., Aderjan, R., & Skopp, G. (1997). Ethylglucuronide concentrations in serum of human volunteers, teetotalers, and suspected drinking drivers. *Journal of Forensic Science*, 42, 1102-1109.

- Schummer, C., Appenzeller, B. M. R., & Wennig, Robert. (2008). Quantitative determination of ethyl glucuronide in sweat. *Therapeutic drug monitoring*, 30(4), 536-9. doi: 10.1097/FTD.0b013e318180c83d.
- Skopp, G., Schmitt, G., Pötsch, L., Dröner, P., Aderjan, R., & Mattern, R. (2000). Ethyl glucuronide in human hair. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 35(3), 283-5. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10869249>.
- Society of Hair Testing (SoHT). (n.d.). Preliminary proposal for a consensus: Use of alcohol markers in hair for abstinence assessment 2012. Retrieved December 11, 2012, from <http://www.soht.org/pdf/Use of Alcohol Markers in Hair for Abstinence Assessment 2012.pdf>.
- Solomons, H. D. (2012). Carbonhydrate deficient transferrin and alcoholism. *Germs*, 2(2), 75-78.
- Staufer K, Andresen H, Vettorazzi E, Tobias N, Nashan B, Sterneck M. (2011) Urinary ethyl glucuronide as a novel screening tool in patients pre- and post-liver transplantation improves detection of alcohol consumption. *Hepatology*. 2011 Nov;54(5):1640-9. doi: 10.1002/hep.24596. PMID: 21809364.
- Stewart S.H., Koch D.G., Willner I.R., Randall P.K., Reuben A. (2013). Hair Ethyl Glucuronide is Highly Sensitive and Specific for Detecting Moderate-to-Heavy Drinking in Patients with Liver Disease. *Alcohol Alcohol*, 48(1):83-7
- Süsse, S., Selavka, C., Mieczkowski, T., & Pragst, F. (2010). Fatty acid ethyl ester concentrations in hair and self-reported alcohol consumption in 644 cases from different origin. *Forensic Sci Int.*, 196, 111-117.
- Watt, K., & McCashland, T. (2004). Transplantation in the Alcoholic Patient. *Seminars in Liver Disease*, 24(3), 249-255.
- Webb, K., Shepherd, L., Day, E., Masterton, G, & Neuberger, J. (2006). Transplantation for Alcoholic Liver Disease: Report of a Consensus Meeting. *Liver Transplantation*, 12(2), 301-305.
- Weinrieb, R., & Lucey, M. (2007). Treatment of Addictive Behaviors in Liver Transplant Patients. *Liver Transplantation*, 13, 79-82.
- Wurst, F. (2004). 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(1), 33-38. doi: 10.1093/alcalc/agh005.
- Wurst, F., Thon, N., & Weinmann, W. (2009). Direkte Ethanolmetabolite in Blut und Urin : Relevanz in Diagnose und Therapie alkoholbezogener Störungen. *Journal of Neurology*, 10(3), 82-8

## 7 Anhang

### 7.1 AUDIT-Fragebogen

1. Wie oft nehmen Sie ein alkoholisches Getränk zu sich?

Nie = 0 Punkte

1 x im Monat oder weniger = 1 Punkt

2 - 4 x im Monat = 2 Punkte

2 - 4 x in der Woche = 3 Punkte

4 x oder mehr die Woche = 4 Punkte

2. Wenn Sie alkoholische Getränke zu sich nehmen, wie viel trinken Sie dann typischerweise an einem Tag? (Ein alkoholhaltiges Getränk ist z.B. ein kleines Glas oder eine Flasche Bier, ein kleines Glas Wein oder Sekt, ein einfacher Schnaps oder ein Glas Likör.)

1 oder 2 = 0 Punkte

3 oder 4 = 1 Punkt

5 oder 6 = 2 Punkte

7 bis 9 = 3 Punkte

10 oder mehr = 4 Punkte

3. Wie oft trinken Sie 6 oder mehr Gläser Alkohol bei einer Gelegenheit?

Nie = 0 Punkte

Weniger als 1 x im Monat = 1 Punkt

1 x im Monat = 2 Punkte

1 x in der Woche = 3 Punkte

Täglich oder fast täglich = 4 Punkte

4. Wie oft haben Sie in den letzten 12 Monaten erlebt, dass Sie nicht mehr mit dem Trinken aufhören konnten, nachdem Sie einmal begonnen hatten?

Nie = 0 Punkte

Weniger als 1 x im Monat = 1 Punkt

1 x im Monat = 2 Punkte

1 x in der Woche = 3 Punkte

Täglich oder fast täglich = 4 Punkte

5. Wie oft passierte es in den letzten 12 Monaten, dass Sie wegen des Trinkens Erwartungen, die man in der Familie, im Freundeskreis und im Berufsleben an Sie hatte, nicht mehr erfüllen konnten?

Nie = 0 Punkte

Weniger als 1 x im Monat = 1 Punkt

1 x im Monat = 2 Punkte

1 x in der Woche = 3 Punkte

Täglich oder fast täglich = 4 Punkte

6. Wie oft brauchten Sie während der letzten 12 Monate am Morgen ein alkoholisches Getränk, um sich nach einem Abend mit viel Alkoholgenuss wieder fit zu fühlen?

Nie = 0 Punkte

Weniger als 1 x im Monat = 1 Punkt

1 x im Monat = 2 Punkte

1 x in der Woche = 3 Punkte

Täglich oder fast täglich = 4 Punkte

7. Wie oft hatten Sie während der letzten 12 Monate wegen Ihrer Trinkgewohnheiten Schuldgefühle oder Gewissensbisse?

Nie = 0 Punkte

Weniger als 1 x im Monat = 1 Punkt

1 x im Monat = 2 Punkte

1 x in der Woche = 3 Punkte

Täglich oder fast täglich = 4 Punkte

8. Wie oft haben Sie sich während der letzten 12 Monate nicht mehr an den vorangegangenen Abend erinnern können, weil Sie getrunken hatten?

Nie = 0 Punkte

Weniger als 1 x im Monat = 1 Punkt

1 x im Monat = 2 Punkte

1 x in der Woche = 3 Punkte

Täglich oder fast täglich = 4 Punkte

9. Haben Sie sich oder eine andere Person unter Alkoholeinfluss schon einmal verletzt?

Nein = 0 Punkte

Ja, aber nicht im letzten Jahr = 2 Punkte

Ja, während des letzten Jahres = 4 Punkte

10. Hat ein Verwandter, Freund oder auch ein Arzt schon einmal Bedenken wegen Ihres Trinkverhaltens geäußert oder vorgeschlagen, dass Sie Ihren Alkoholkonsum einschränken?

Nein = 0 Punkte

Ja, aber nicht im letzten Jahr = 2 Punkte

Ja, während des letzten Jahres = 4 Punkte

## 8 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Franziska Lucia Jahn-Otto, geb. Jahn versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Konzentration von Alkohol-Biomarkern im Haar in Korrelation zur aufgenommenen Alkoholmenge in drei Monaten bei Patienten mit schweren Lebererkrankungen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Hattingen, den 09.04.2020

Franziska Lucia Jahn-Otto

## **9 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Franziska Lucia Jahn-Otto hatte folgenden Anteil an folgender Publikation:

Wissenschaftliches Poster beim Suchtkongress 2011, Frankfurt am Main

### **Alkohol Biomarker im Haar bei Patienten mit Lebererkrankung – eine Pilotstudie**

*Anton Goldmann, Lucia Jahn, Tim Neumann, Scott Stewart und Claudia Spies*

Ab der Planungsphase der praktischen Umsetzung war Frau Jahn-Otto mit eingebunden. Im Rahmen der Rekrutierung der StudienpatientInnen führte Frau Jahn-Otto folgende Aufgaben durch:

Rekrutierung und Aufklärung der Teilnehmer, Befragung, Haarprobenentnahme, Studiendokumentation und Dokumentation der Laborwerte.

Frau Jahn-Otto führte eigenständig und alleinverantwortlich die Auswertungen der Fragebogen- und Patientendaten durch.

Sie erstellte die Datenbank inkl. Aufbereitung der Daten zur Vorbereitung der statistischen Analyse, Datenvalidierung, Erstellung der SPSS Tabelle für die statistische Analyse sowie Durchführung der statistischen Auswertung.

Sie fertigte die Monographie inklusive Tabellen und Abbildungen an.

---

Unterschrift der Doktorandin

## **10 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## **11 Publikationsliste**

Wissenschaftliches Poster beim Suchtkongress 2011, Frankfurt am Main

### **Alkohol Biomarker im Haar bei Patienten mit Lebererkrankung – eine Pilotstudie**

*Anton Goldmann, Lucia Jahn, Tim Neumann, Scott Stewart und Claudia Spies*

## **12 Danksagung**

Mein allerherzlichster Dank gilt an erster Stelle meiner Doktormutter, Frau Univ. Prof. Dr. med. Claudia Spies. Besonders ihre herzliche und motivierende Art, die kontinuierliche Betreuung und unermüdliche Unterstützung waren eine sehr große Hilfe. Herrn Dr. Anton Goldmann danke ich ganz herzlich für seine Betreuung und Hilfsbereitschaft während der gesamten Zeit, er hat durch zahlreiche konstruktive Hinweise wesentlich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen.

Mein fachlicher Dank gilt den Gutachtern dieser Arbeit.

Ich danke allen Patientinnen und Patienten, die sich zur Teilnahme an der Studie bereit erklärt haben und trotz der Belastung ihrer Erkrankung durch ihre Einsatzbereitschaft und Kooperation die Untersuchungen ermöglicht haben.

Zuletzt gebührt mein besonderer Dank meiner Familie, die mich in all den Jahren mit viel Unterstützung, wertvollen Ratschlägen und Liebe begleitet haben und mir stets zur Seite standen. Danke