

## Biomarker des Alkoholkonsums – eine Übersicht

Torsten Arndt

Bioscientia Institut für Medizinische Diagnostik GmbH, D-55218 Ingelheim, Germany

---

**Key words:** abuse, alcohol, biomarker, carbohydrate-deficient transferrin, liver enzymes, review

### Abstract

**Aim:** Biomarkers of alcohol abuse have been in the focus of the scientific work of the author during the last 2 decades. The aim of the report is to give an overview about and an assessment of the diagnostic validity of those parameters suggested to be used as biomarkers of alcohol (ab)use with focus on those currently used as such.

**Methods:** The data from the literature, starting approx. in the middle of the last century, and data from own studies, e. g. on carbohydrate-deficient transferrin, ethylglucuronide, as well as the so-called “classical alcohol abuse markers” AST, ALT,  $\gamma$ -GT, and MCV have been reviewed systematically, checked for redundancy, condensed and presented in some review articles and book chapters. These have been again condensed for this presentation.

**Results and Discussion:** Alcohol abuse and alcohol addiction cause considerable consequential damage for both the individual and society. In Germany, the follow-up costs of alcohol misuse are estimated to be several ten billion Euro. This is the reason why there has been an intense ongoing search for valid markers of alcohol abuse and alcohol dependency. Such markers can be divided into so-called Trait- and State-markers. Trait-markers, e. g. platelet monoaminoxidase activity or specific alleles of the D2-dopamine receptor gene, are time-independent indicators, which (should) point to a genetic predisposition for the development of alcohol dependency. Until now, trait-markers have not gained much acceptance due to limited analytical robustness and/or diagnostic accuracy. State-markers are time-dependent parameters which (should) indicate an (increased) alcohol consumption. Such markers are usually divided into those of acute or recent alcohol use and those of chronic alcohol abuse. The demands for being a valid State-Marker are very high. In the final analysis, a maximum diagnostic specificity and sensitivity is needed, very often being mutually exclusive. Valid markers of acute or recent alcohol intake are ethanol, ethylglucuronide and ethylsulfate in blood and urine. These parameters are well-established and are standard parameters of a clinical and toxicological laboratory. Congener analysis, e. g. methanol, is common in forensic labs and adds valuable information. A wide range of parameters has been proposed for the detection of chronic alcohol abuse. Most of them have not proven analytical robustness and/or sufficient diagnostic accuracy, e. g. the “liver enzymes” ALT and AST and the mean corpuscular volume of erythrocytes. Both show low diagnostic accuracy and it is no longer acceptable to use these parameters for the diagnosis of chronic alcohol abuse. Relatively new parameters like fatty acid ethyl esters (FAEE) in hair and phosphatidyl ethanol (PEth) in blood, showed in first reports an acceptable diagnostic accuracy. However, it is too early to make a final judgement about analytical robustness, diagnostic specificity and sensitivity and about the additional diagnostic information provided by these parameters in comparison with well established markers. Those markers are carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and serum activity of  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ -GT). CDT is considered to be the most specific marker of chronic alcohol abuse so far. In fact, increased CDT values are almost specific for chronic alcohol abuse whereas, due to limited diagnostic sensitivity, normal CDT results do not rule out alcohol abuse. Parallel analysis of serum  $\gamma$ -GT and ethylglucuronide in hair can increase the diagnostic sensitivity.

**Conclusion:** Laboratory markers of alcohol abuse provide valuable information regarding the individual alcohol consumption. They should, however, not be used alone but should always be interpreted within the context of the clinical (or case) background including if possible a structured questionnaire.

## 1. Einleitung

Wichtet man die Suchtproblematik in Deutschland nach der Zahl der betroffenen Personen insgesamt, steht der problematische Gebrauch von Pharmaka mit Suchtgefahr mit 20 Mio betroffenen Personen, davon 1,4 Mio Abhängigen, an erster Stelle. Es folgt der Nikotinkonsum mit ca. 16,6 Mio Rauchern, davon 3,8 Mio abhängigen Rauchern. An dritter Stelle liegt der Alkoholmissbrauch mit 9,5 Mio Personen mit riskantem Alkoholkonsum, d. h. >12 g Ethanol/Tag für Frauen bzw. >24 g Ethanol/Tag für Männer, davon 2 Mio mit Alkoholmissbrauch und 1,3 Mio mit Alkoholabhängigkeit nach DSM IV. Erst dann folgt der Drogenkonsum mit ca. 2,4 Mio Cannabiskonsumenten, davon 0,38 Mio mit missbräuchlichem Konsum und 0,22 mit Cannabisabhängigkeit. Andere Drogen werden von 0,64 Mio Personen konsumiert, davon 0,27 Mio mit riskantem Konsum und 0,17 Mio mit Drogenabhängigkeit (alle Angaben unter [www.dhs.de](http://www.dhs.de), letzte Abfrage 22. März 2011).

Berücksichtigt man dagegen nur die Fallzahlen der Abhängigen innerhalb der verschiedenen Suchtstoffgruppen, dominiert die Nikotinabhängigkeit (3,8 Mio), gefolgt von vergleichbaren Fallzahlen für Pharmaka (1,4 Mio) und Alkohol (1,3 Mio). Die individuell sozialen und gesamtgesellschaftlichen Folgekosten des Substanzmissbrauchs sind enorm. Sie wurden für den Alkoholmissbrauch allein (ohne Nikotinbeteiligung) für das Jahr 2007 auf ca. 10,0 Mrd. direkte Kosten (Ressourcenverbrauch durch Behandlungskosten, Sachschäden/Verkehrsunfälle und Rettungsdienste/Gesundheitsschutz) sowie weitere 16,7 Mrd. indirekte Kosten (Arbeitsausfall, vorzeitiger Tod, Frühberentung etc.) geschätzt [1].

## Sucht in Deutschland

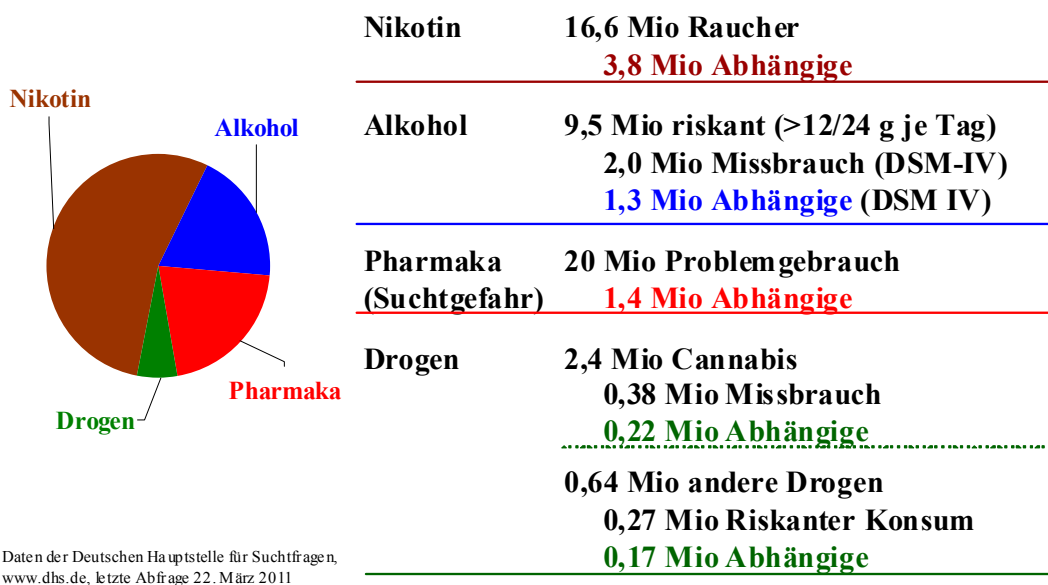


Abb. 1. Verteilung der Abhängigkeitsfälle in Deutschland (Zahlenangaben s. Text).

Hieraus erwächst der große Bedarf an Kenngrößen des Alkoholkonsums, die, je nach Fragestellung, einen riskanten, missbräuchlichen oder chronisch erhöhten Alkoholkonsum sensitiv und spezifisch anzeigen sollen. Abbildung 2 fasst einige Grundforderungen an eine solche Kenngröße zusammen.

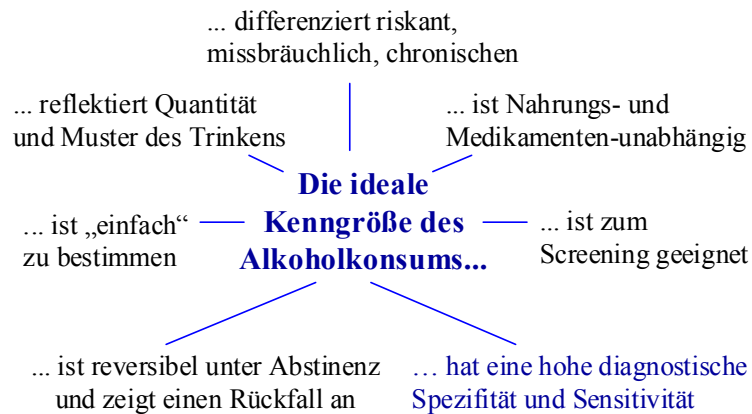


Abb. 2. Anforderungen an eine ideale Kenngröße des Alkoholkonsums.

Kenngrößen des Alkoholkonsums können nach verschiedenen Kriterien systematisiert werden. Ein in der toxikologischen Literatur häufig angewandtes Prinzip ist die Unterteilung in „Direkte“-Marker, d. h. unmittelbar mit Ethanol und seinen Metaboliten in Zusammenhang stehende Kenngrößen und „Indirekte“-Marker, d. h. aus der Wirkung von Ethanol und seinen Metaboliten und/oder aus dem Alkoholkonsum resultierende Parameter.

Eine in der klinisch-chemischen Literatur angewandte Klassifikation ist die in sog. State- und Trait-Marker, wobei sich State-Marker, wie in Abb. 3 gezeigt, nach dem Zeitfaktor zwischen Alkoholkonsum und noch gegebener Nachweismöglichkeit weiter untergliedern lassen.



Abb. 3. Klassifizierung der Kenngrößen des Alkoholkonsums unter zeitlichem Aspekt.

Obwohl Trait-Marker seit Jahrzehnten als mögliche Kenngrößen des Alkoholkonsums, der Alkoholabhängigkeit und als Indikatoren für ein erhöhtes individuelles Risiko zur Entwicklung einer Alkoholabhängigkeit diskutiert werden, haben diese für die Routinediagnostik nach wie vor keine Bedeutung. Sie sollen deshalb nachfolgend nicht weiter berücksichtigt werden.

Die große Mehrheit der bisher vorgeschlagenen und auch alle derzeit in der Diagnostik eingesetzten Kenngrößen des Alkoholkonsums sind State-Marker. Sie werden ausschließlich in biologischen Matrices wie z. B. Blut, Urin und Haaren bestimmt und deshalb nicht selten als Biomarker des Alkoholkonsums bezeichnet. (Anmerkung: Der von Chirurgen mitunter scherzhaft angegebene Alkoholmissbrauchs-Marker „Knochenbrüche“ wäre danach kein

Biomarker, aber dennoch ein State-Marker). Abbildung 4 zeigt eine Auswahl der historischen und aktuellen Biomarker, von denen sich die meisten wegen mangelnder diagnostischer Aussagekraft und/oder wenig routinetauglicher Analytik nicht dauerhaft in der Routinediagnostik etablieren konnten. Sie lassen sich in 4 Gruppen untergliedern, die aus der Leberschädigung hervorgehenden Kenngrößen (oben links), direkt mit Ethanol und seinen Metaboliten verbundene Kenngrößen (oben rechts), indirekt mit der Wirkung von Ethanol(metaboliten) verbundene Parameter des Aminosäure-/Protein-, Lipoprotein- und Kohlenhydratstoffwechsels (unten links) und der direkte Nachweis von leichtflüchtigen Begleitstoffen (Alkohole, Aldehyde etc.) alkoholischer Getränke (unten rechts).

- |   |   |   |
|---|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alaninaminotransferase, ALT (s)</li> <li>• Aspartataminotransferase, AST (s)</li> <li>• AST/ALT-Quotient (s)</li> <li>• mitochondriale AST, mAST (s)</li> <li>• mAST/AST-Quotient (s)</li> <li>• <math>\gamma</math>-Glutamyltransferase (s)</li> </ul>  | ? | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Azetaldehyd (s, e)</li> <li>• Azetaldehyd-Amin-Addukte (u)</li> <li>• Azetaldehyd-Hämogl.-Addukte (b)</li> <li>• AK gegen Azetaldehyd-Addukte (s)</li> <li>• Azetat (s, p)</li> <li>• Ethanol (b, s, u)</li> <li>• EtG, EtS, EtP (s, u, h)</li> <li>• Fettsäureethylester, FAEE (b, h)</li> <li>• Phosphatidylethanol, PEth (b)</li> <li>• AK gegen Phosphatidylethanol (s)</li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aldehyddehydrogenase (e)</li> <li>• <math>\alpha</math>-NH<sub>2</sub>-n-Buttersäure (p)</li> <li>• <math>\alpha</math>-NH<sub>2</sub>-n-Buttersäure/Leuzin-Ratio (p)</li> <li>• Apolipoproteine AI und II (s)</li> <li>• Carbohydrate-deficient Transferrin, CDT (s)</li> <li>• Dolichole (u)</li> <li>• HDL (s)</li> <li>• <math>\beta</math>-Hexosaminidase (s)</li> <li>• 5-Hydroxytryptophol, 5-HTOL (u)</li> <li>• 5-HTOL/5-HIES-Quotient (u)</li> <li>• Mittleres Erythrozytenvolumen, MCV (b)</li> </ul> |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Begleitstoffe (Methanol etc.)</li> </ul>   |

Abb. 4. Historische und aktuelle Biomarker des Alkoholkonsums. Die Mehrheit hat sich wegen unzureichender diagnostischer Aussagekraft und/oder unpraktikablem analytischen Aufwand als Routineparameter nicht durchsetzen können. In Klammern sind die üblichen Probenmatrices notiert: b - Blut, e - Erythrozyten, h - Haare, p - Plasma, s - Serum, u – Urin (Details in [2,3]).

## 2. Routineparameter mit mangelnder diagnostischer Aussagekraft

### 2.1. „Leberenzyme“

#### 2.1.1. Alanin-Aminotransferase-Aktivität (ALT, GPT)

Die ALT ist ein nahezu ubiquitär, d. h. in allen Organen, vorkommendes Enzym. Die höchste Aktivität findet sich in der Leber (und der Niere), weshalb die Serumaktivität der ALT hauptsächlich durch die mit dem physiologischen Zelluntergang aus den Hepatozyten austretende ALT bestimmt wird. ALT wird deshalb zu den „klassischen Leberenzymen“ gezählt und (noch immer) allgemein als Kenngröße des Alkoholmissbrauchs genutzt.

Dabei wird häufig übersehen, dass die ALT in signifikanten Mengen auch in Myokard- und Skelettmuskel, Pankreas, Milz und Lunge vorkommt und dass deshalb auch Erkrankungen dieser Organe zu pathologischen Serum-ALT-Aktivitäten führen können (Abb. 5).

In Erythrozyten liegt eine ca. 7fach höhere ALT-Aktivität als in Serum vor [4], weshalb Hämolyse (z. B. durch Transport von unzentrifugierten Proben in ein externes Labor oder bei Erythrozytenzerfall in alten Blutproben) zu einem starken Anstieg der ALT-Serumaktivität und damit zu falsch-positiven Befunden bzgl. Alkoholmissbrauch führen kann.

Die Halbwertszeit der ALT im Blut beträgt  $47 \pm 10$  h. Unter Raumtemperatur tritt ein Aktivitätsverlust von bis zu 40%/Woche, bei  $4^\circ\text{C}$  von noch immer 20%/Woche ein [4]. Das kann zu falsch-negativen Befunden bzgl. Alkoholmissbrauch führen.

### 2.1.2. Aspartat-Aminotransferase (AST, GOT)

Die AST ist ein im menschlichen Organismus nahezu ubiquitär vorkommendes Enzym mit höchsten Aktivitäten in Myokard- und Skelettmuskel, Leber und Niere. Signifikante Mengen finden sich jedoch auch in Pankreas, Milz und Lunge. AST findet sich in ca. 15fach höherer Aktivität in den Erythrozyten [4], weshalb auch schon leichte Hämolyse (s. ALT) zu signifikant erhöhten AST-Aktivitäten im Serum führen kann. Hämolyse und Erkrankungen der hier genannten Organsysteme (Abb. 5) reduzieren die diagnostische Spezifität der AST als Biomarker des Alkoholkonsums und bergen ein erhebliches Risiko für falsch-positive Befunde bzgl. Alkoholmissbrauch.

Die AST-Halbwertszeit beträgt im Blut  $17 \pm 5$  h. Bei Raumtemperatur sind Blutproben 4 Tage stabil, bei Kühlschranktemperatur wird ein Aktivitätsverlust von 12%/Woche angegeben [4]. Die wichtigsten Ursachen für erhöhte AST- und ALT-Aktivitäten fasst Abb. 5 zusammen.

#### **Erhöhte AST (GOT)**

- Myokardinfarkt
- Traumata, Post operationem
- Muskeldystrophien
- akute Pankreatitis
- Lungenembolie
- Nieren- und Hirninfarkt
- Leistungs-/Ausdauersport
- Myocarditis
- Herzmassage und Defibrillation
- Strahlenschäden
- i.m.-Injektion, Stürze, Tritte, ...
- Insektenstiche
- Hämolyse

#### **Erhöhte AST und ALT (GPT)**

- Hepatitis
- toxische Leberschädigung
- Stauungsleber/Rechtsherzinsuffizienz
- Leberzirrhose, Primär Biliäre Cirrhose
- Cholestase und Lebertumore
- Makroenzyme
- Mononucleose
- Pharmaka (Heparin, Statine, Antiepileptika, ...)
- **Hämolyse**
- **Alkoholabusus**

Abb. 5. Ursachen für erhöhte AST- und ALT-Serumaktivitäten (Auswahl).

Fazit: Die „Leberenzyme“ AST (GOT) und ALT (GPT) sind von einer Vielzahl von vom individuellen Alkoholkonsum unabhängigen physiologischen und pathologischen Zuständen beeinflusst. Sie sind deshalb keine validen Kenngrößen des Alkoholkonsums. Für eine forensisch belastbare Bewertung von AST- und ALT-Serumaktivitäten in Begutachtungen müssen die hier genannten Ursachen für falsch-positive Befunde differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Da dies mit vertretbarem Aufwand und hinreichender Sicherheit nicht gewährleistet werden kann, müssen diese Parameter als für die Alkoholmissbrauchsdiagnostik obsolet und für begutachterliche Zwecke als ungeeignet zurückgewiesen werden.

## 2.2. Mittleres Volumen der Erythrozyten (MCV)

Das mittlere korpuskuläre Volumen der Erythrozyten (mean corpuscular volume of erythrocytes) galt lange Zeit als Kenngröße eines chronischen Alkoholkonsums. Die unstrittige mangelnde diagnostische Spezifität und Sensitivität haben eine Abkehr vom MCV als Biomarker des Alkoholkonsums eingeleitet. So führen einerseits in-vivo Vitamin-B12- und/oder Folsäuremangel (iatrogen, resorptiv), hämatologische Tumore, makrocytäre Anämien, Retikulozytose, Transfusionen, Pharmaka, Kontrazeptiva und Rauchen neben Alkoholabusus (Mangelernährung → Vitaminmangel → Erythropoese gestört → MCV↑) zu einem erhöhten MCV, andererseits (und dies wird zumeist völlig außer Acht gelassen!) aber auch die in-vitro Aufblähung der Erythrozyten durch Sauerstoffmangel in der EDTA-Blutprobe zu pathologisch erhöhten MCV-Werten. Gleichzeitig bedingt die Lebensdauer der Erythrozyten von durchschnittlich 120 Tagen (Halbwertszeit ca. 60 Tage) ein sehr träges Ansprechen auf Alkoholabusus und damit eine geringe diagnostische Sensitivität des MCV. Proben zur MCV-Bestimmung sind bei Raumtemperatur nur ca. 6h, bei 4°C 24h stabil [4].

Fazit: Das mittlere Erythrozytenvolumen (MCV) ist kein valider Biomarker des Alkoholkonsums. Die Bestimmung und Interpretation des MCV zur Diagnostik des Alkoholmissbrauchs ist als obsolet zu bewerten und strikt zurückzuweisen.

## 2.3. $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT, GGT) in Serum

Die  $\gamma$ -GT ist ein im menschlichen Organismus nahezu ubiquitär vorkommendes Enzym. Seine größte Menge findet sich in der Leber, die höchste spezifische Aktivität (pro Gramm Organmasse) in der Niere [4].  $\gamma$ -GT kommt nicht in den Muskelzellen und Erythrozyten vor, was einen nicht unbedeutenden Vorteil für die diagnostische Spezifität der  $\gamma$ -GT im Vergleich zu ALT und AST bedeutet. So entfallen alle Muskelerkrankungen und Hämolyse als Ursachen für  $\gamma$ -GT-Erhöhungen und damit falsch-positive Befunde bzgl. Alkoholmissbrauch.

Erhöhte  $\gamma$ -GT-Serumaktivitäten finden sich vor allem bei hepatobiliären Erkrankungen, d. h. Erkrankungen, die zu einer Abflussstörung der Gallensäuren führen. Pathobiochemisch wird eine Stimulation der  $\gamma$ -GT-Synthese durch die aufgestauten Gallensäuren als ursächlich betrachtet. Dabei beschränkt sich der Ursachenkreis nicht nur auf die Leber selbst, sondern umfasst auch von der Leber primär unabhängige Erkrankungen und Zustände, die sich auf den Gallenabfluss negativ auswirken können. Abbildung 7 stellt die wichtigsten Ursachen von erhöhten Serumaktivitäten der  $\gamma$ -GT zusammen.

### **Erhöhte $\gamma$ -GT**

- Cholestase, Hepatitiden, Fettleber, Leberfibrose, Lebercirrhose
- Autoimmunerkrankungen der Leber (z. B. Primär Biliäre Cirrhose)
- Leberstauung, Lebertumore
- Pankreatitis, Pankreastumore
- Langzeitmedikation mit Antikonvulsiva, Sedativa u. a.
- Prostatakarzinom
- Orale Kontrazeptiva, Schwangerschaft
- $\gamma$ -GT Makroenzyme
- Intoxikationen (z. B. CCl<sub>4</sub>)
- **Alkoholabusus**

Abb. 7. Ursachen für erhöhte  $\gamma$ -GT-Serumaktivitäten.

Die Halbwertszeit der  $\gamma$ -GT beträgt für ihre wasserlösliche Form 9h, für die an HDL und LDL gebundene 20h. Dyslipoproteinämien können also zu einer verlangsamten Abklingrate der  $\gamma$ -GT nach Organschädigung beitragen [4].

Fazit: Die  $\gamma$ -GT-Serumaktivität ist primär eine Kenngröße der Cholestase und kein valider Biomarker des Alkoholkonsums. Im Vergleich zu den vorgenannten Parametern zeigt die  $\gamma$ -GT eine höhere diagnostische Spezifität und im Vergleich zum CDT (s. u.) eine höhere diagnostische Sensitivität. Werden im Begutachtungsprozess die o. g. Ursachen für erhöhte  $\gamma$ -GT-Aktivitäten ohne Alkoholabusus ausgeschlossen, kann die Bestimmung der  $\gamma$ -GT als leicht zugänglicher, kostengünstiger klinisch-chemischer Parameter wertvolle Zusatzinformationen liefern und z. B. pathologische CDT-Werte absichern.

### 3. Routineparameter mit hinreichender diagnostischer Aussagekraft

#### 3.1. Begleitstoffe

Die Bestimmung der Begleitstoffe (Methanol, Aceton, 2-Propanol) ist eine etablierte Methode zum Nachweis einer akuten oder sehr kurzfristig zurück liegenden Alkoholaufnahme. Bei Einsatz einer validen massenspektrometrischen Analysenmethode ist der Nachweis von Begleitstoffen analytisch und diagnostisch (begutachterlich) ein spezifischer und sensitiver Nachweis eines kurzfristig zurück liegenden Alkoholkonsums. Zu Details sei auf die Originalliteratur verwiesen (z. B. Toxichem Krimtech 2011;78(1):16-22). Im klinisch-chemischen Labor ist die Begleitstoffanalyse bisher kaum etabliert.

#### 3.2. Ethanol (Blut)

Die Blutethanolbestimmung (Blutalkohol) ist eine Standardmethode des toxikologisch-rechtsmedizinischen Labors. Die Richtlinien der GTFCh zur Blutalkoholbestimmung sind unter [www.gtfch.org](http://www.gtfch.org) zu finden.

#### 3.3. Ethylglukuronid (EtG) und Ethylsulfat (EtS)

Ethylglukuronid und Ethylsulfat entziehen sich einer einfachen Klassifikation als Akut-, Kurzzeit- oder Langzeitmarker des Alkoholkonsums, da sie sowohl als Kurzzeitmarker (Blut und Urin) als auch als Langzeitmarker (Haare) eingesetzt werden können. Sie sind als quantitativ unbedeutende Nebenprodukte des Ethanolstoffwechsels (Konjugation von Ethanol mit Glukuron- bzw. Sulfonsäure) direkte Marker des Alkoholkonsums.

Aus Sicht des Autors müssen kritische Fragen zur Nachweisbarkeitsdauer von EtG im Urin gestellt werden. In Abgrenzung zur kurzen Nachweisbarkeitsdauer von wenigen Stunden für Ethanol im Urin, wird diese für EtG gewöhnlich mit 3-4 Tagen angegeben, ohne dass eine dosis- und trinkmusterabhängige Bewertung erfolgt.

Tatsächlich lagen in Trinkversuchen mit 200 mL Rotwein (=19 mg Ethanol) innerhalb 15 min nach 2 Tagen Alkoholabstinenz und einer Standardmahlzeit von einer belegten Scheibe Brot bereits alle EtG-Werte schon nach 24 h wieder unter der Entscheidungsgrenze von 0,1 mg/g Kreatinin (oder 0,1 mg/L) (Abb. 8). Damit müssen Reaktionszeiten von mehr als 1 Tag, z. B. zwischen Einbestellung zur und tatsächlicher Urinabgabe innerhalb der Fahreignungsbeurteilung oder Urinkontrollen zur Rückfallsdiagnostik nach dem Wochenendurlaub eines Patienten in der Entzugsbehandlung hinterfragt werden.

## EtG (u) -Nachweisbarkeitsdauer?

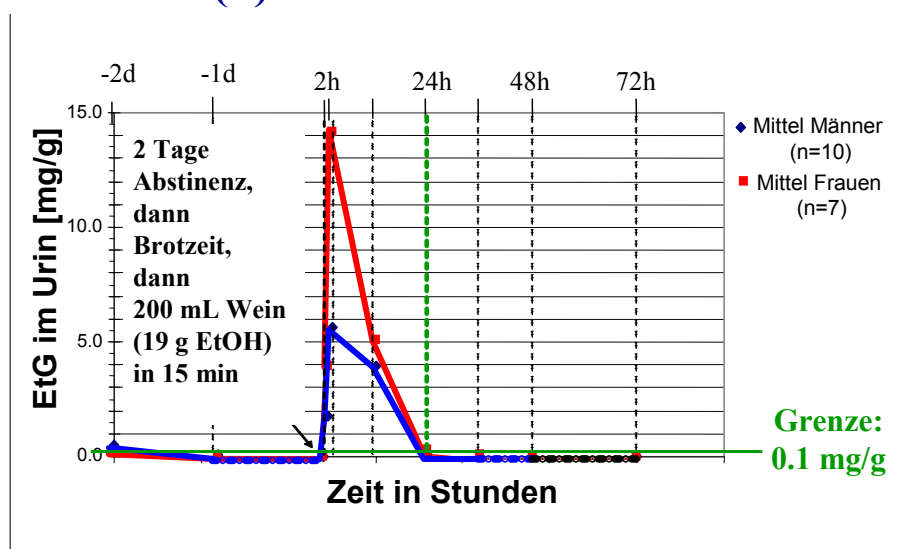


Abb. 8. Verlauf der EtG-Konzentration (CEDIA, Microgenics) im Urin nach einer kontrollierten Aufnahme von 19 g Ethanol (einer nicht untypischen Alkoholmenge im Rückfall von Personen im sog. betreuten Wohnen).

Unabhängig hiervon sind EtG und EtS als valide Kenngrößen eines Alkoholkonsums zu bewerten. Sie finden in der toxikologisch-forensischen und in der klinisch-chemischen Analytik (Immunoassayscreening + Massenspektrometrie-Bestätigung) breite Anwendung. Sie haben erheblich zur Verbesserung der Diagnostik und Begutachtung durch Überbrückung der Lücke zwischen Biomarkern des akuten und chronischen Alkoholkonsums beigetragen.

Einzelheiten zu Präanalytik, Analytik und Interpretation von EtG und EtS sind in den Beiträgen VS-03 und VS-05 des Satellitensymposiums und in den Vortrags- und Posterabstracts P-20, P-21, P-22, V-32 und V-39 des XVII.-GTFCh-Symposiums zu finden (Abstracts in Toxichem Krimtech 2011; Heft 2; einige Vollbeiträge in diesem Proceedingsband).

### 3.4. Kohlenhydrat-defizientes Transferrin (CDT)

Kohlenhydrat-defizientes Transferrin ist per definitionem die Summe der N-Glykan-defizienten Transferrin-Isoformen Asialotransferrin, Monosialotransferrin und Disialotransferrin, wobei Disialotransferrin als die quantitativ bedeutendste CDT-Isoform den Hauptteil der CDT-Fraktion bildet, Asialotransferrin nur unter starkem chronischen Alkoholmissbrauch nachweisbar ist. Monosialotransferrin ist weder qualitativ noch quantitativ von praktischer Bedeutung. Vereinfacht kann CDT deshalb auch als die Summe aus Disialotransferrin und falls nachweisbar Asialotransferrin interpretiert werden [5].

CDT ist keine Kenngröße des akuten, einmaligen oder in großen zeitlichen Abständen wiederholt stattfindenden Alkohlexzesses. Es ist eine Kenngröße des chronischen Alkoholmissbrauchs (ein indirekter Langzeitmarker nach o. g. Nomenklatur).

Als minimale Ethanolmenge, die zum Anstieg von CDT führt, werden 50-80 g EtOH/Tag an mindestens 7-10 aufeinander folgenden Tagen angegeben [5]. Diese führen durch Ethanol- bzw. Acetaldehyd-Wirkung zu einer gestörten Synthese der N-Glykane [Transferrin ist ein Glykoprotein mit einer Aminosäurekette und 2 an ihr angelagerten Kohlenhydratketten (= N-Glykane)] (Abb. 9).



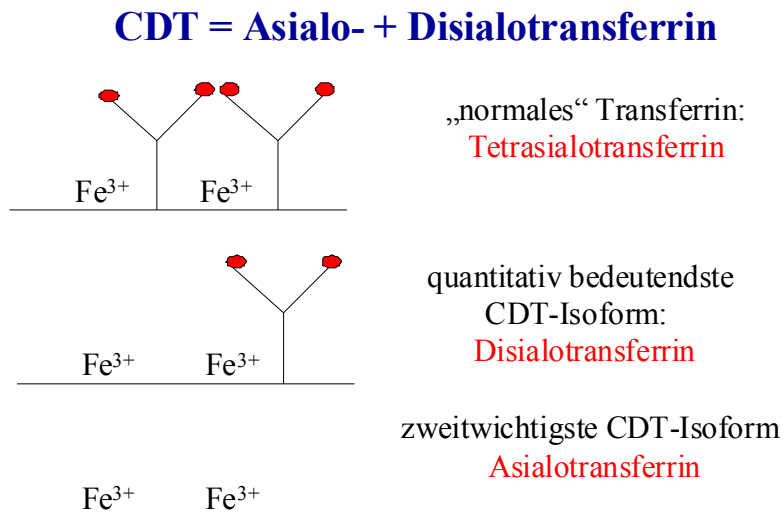


Abb. 9. Wichtige Transferrin-Isoformen [deren Bezeichnung sich an der Zahl der endständigen Sialinsäure (= Neuraminsäure)-Resten (rote Punkte) orientiert]. Die quantitativ bedeutendste Form ist unter physiologischen und zumeist auch pathologischen Bedingungen Tetrasialotransferrin 70-80% des Gesamttransferrins. Unter chronischem Alkoholabusus sind erhöhte Mengen von Disialotransferrin und bei schwerem Missbrauch zusätzlich Asialotransferrin nachweisbar (Abb. 10).

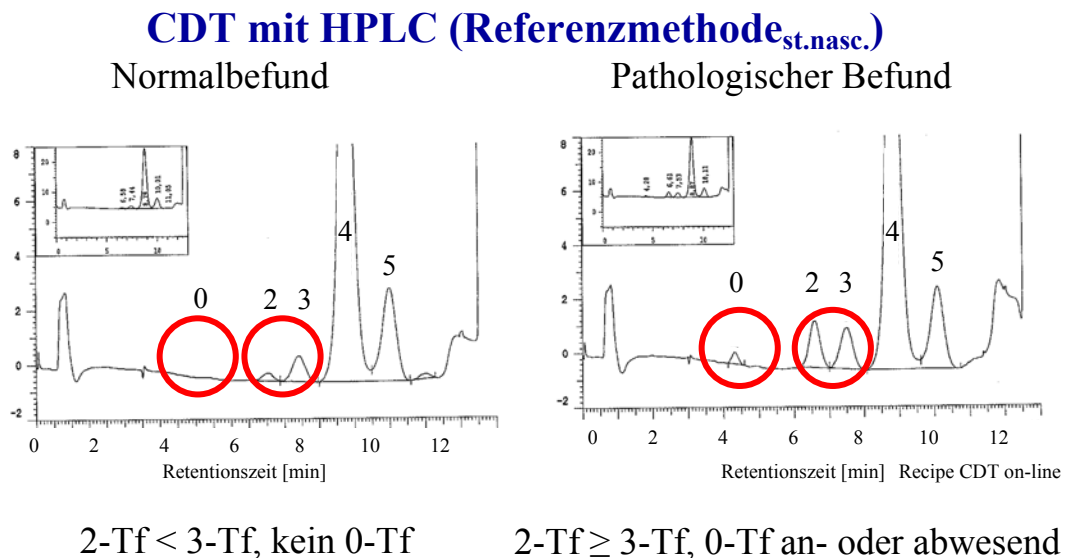


Abb. 10. Transferrin-Isoformenmuster bei normalem Alkoholkonsum und schwerem chronischen Alkoholabusus (unveröffentlichte Chromatogramme aus dem Labor des Autors).

Der Median der unter Normalkonsum gemessenen CDT-Werte liegt bei 0,9% CDT. Die Mehrheit der pathologischen CDT-Werte ist >1,7% und < 3,0%. Werte zwischen 3-10% sind durchaus üblich, Werte darüber schon selten, als Extremwerte wurden für 2 Patienten Werte von 40-48% CDT gemessen. Dabei zeigte 1 Patient bereits bei der Blutentnahme (die spätere Ethanolmessung ergab 2 Promille) Entzugssymptome (unveröffentlichte Ergebnisse).

Aus forensischer Sicht sind falsch-positive Befunde bei fortgeschrittenen Lebererkrankungen (Cirrhose, chronische Hepatitiden) von Bedeutung. Bei Einsatz physiko-chemischer Analyseverfahren wie HPLC (Empfehlung der IFCC Arbeitsgruppe zur CDT-Standardisierung) oder Kapillarelektrophorese werden genetische Transferrin-Varianten vom sonst üblichen Transferrintyp (C-Variante) abgetrennt und visualisiert (Abb. 11) und damit als Ursachen für falsch-negative Befunde (B-Varianten; relativ häufig mit ca. 1-3 innerhalb 100 Analysen) oder falsch-positive Befunde (D-Varianten; in Europa extrem selten, im Labor des Autors 2x detektiert innerhalb von ca. 100.000 Analysen) ausgeschlossen.

In der Kritik steht berechtigt die z. B. im Vergleich zur  $\gamma$ -GT schlechtere diagnostische Sensitivität des CDT (im Mittel Frauen 50%, Männer 70%), was nicht selten zur völligen Ablehnung des CDT als Biomarker des Alkoholkonsums führt(e). Dabei muss beachtet werden, dass die o. g. „Alternativen“ ALT, AST und MCV eine signifikant schlechtere diagnostische Spezifität haben und damit nicht nur zur Beantwortung forensischer Fragestellungen zum Alkoholkonsum einer Testperson ungeeignet sind.

In der Begutachtung von CDT-Werten muss beachtet werden, dass CDT auch unter lebenslanger Abstinenz nicht „Null-Werte“ (nicht nachweisbar) erreicht und statt dessen immer (auch schon bei Kleinstkindern) Disialotransferrin nachweisbar ist.

### Genetische Transferrin-B-Varianten

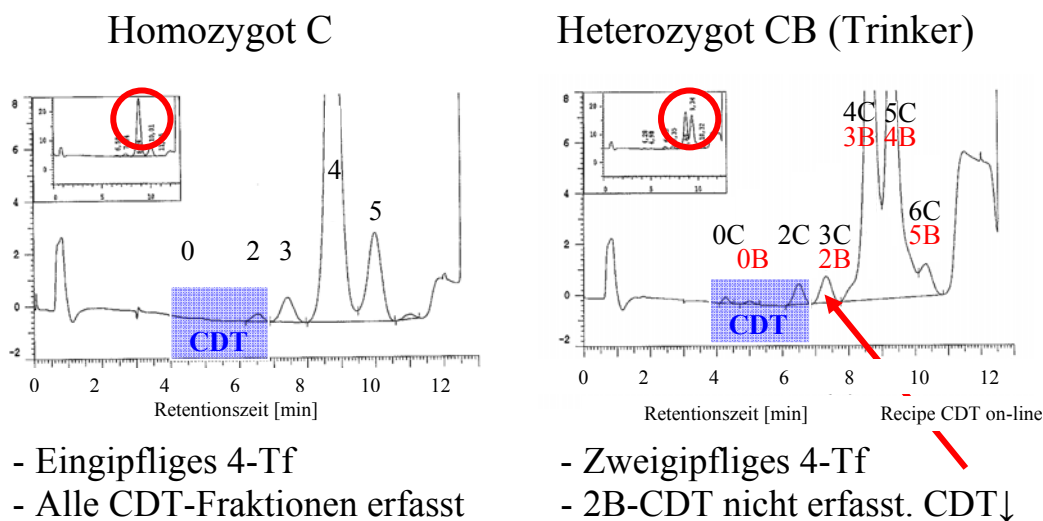


Abb. 11. Genetische Transferrin-Varianten stellen sich gewöhnlich durch ein 2-gipfliges (mitunter nur an der Spitze gespaltenes) Tetrasialotransferrin-Signal (4-Tf) dar. Sie können dadurch leicht erkannt werden. Eine valide CDT-Bestimmung ist dennoch nicht möglich, da wie gezeigt CDT- und nicht-CDT-Isoformen koeluiieren [z. B. hier Disialotransferrin-B (CDT) mit Trisialotransferrin-C (nicht-CDT)].

Die immer wieder aufgeworfene Behauptung, dass sich CDT innerhalb von 14 Tagen normalisiert, d. h. unter den heute üblichen Graubereich von 1,75-2,50% fällt, sind falsch und aus begutachterlicher Sicht kritisch. Stattdessen ist unter Abstinenz eine Halbwertszeit von 10-14 Tagen beschrieben worden [5], die schon bei CDT-Ausgangswerten von 10% die gemachte Angabe widerlegen und bei CDT-Werten bis zu über 40% zu theoretischen Normalisierungszeitspannen von mehreren Monaten führen.

Zusammenfassend lässt sich zum CDT feststellen: CDT ist der derzeit spezifischste Biomarker eines chronischen Alkoholmissbrauchs. Seine unbefriedigende diagnostische Sensitivität kann nicht eine völlige Abkehr von diesem Parameter begründen, da die dann häufig wieder herangezogenen „Alternativen“ AST, ALT und MCV zu einem dramatischen Verlust in der diagnostischen Spezifität führen würden. Der Wert des CDT als spezifischer Biomarker des chronischen Alkoholmissbrauchs lässt sich vereinfacht wie folgt zusammenfassen: Ein erhöhtes CDT ist nahezu beweisend für chronischen Alkoholabusus. Ein normales CDT schließt chronischen Alkoholmissbrauch nicht aus.

#### 4. Ausblick

Von den noch relativ neuen, noch unvollständig validierten Parametern sollen abschließend Phosphatidylethanol, PEth (b) und die Fettsäureethylester, FAEE (h) einer kritischen Betrachtung unterzogen werden.

##### 4.1. Phosphatidylethanol (PEth)

Phosphatidylethanol wird in den Zellmembranen aus Phosphatidylcholin und Ethanol durch eine Phospholipase D-katalysierte Reaktion gebildet. Normalerweise hydrolysiert dieses Enzym Phosphatidylcholin zu Phosphatidsäure und Cholin. Da Ethanol aber eine im Vergleich zu Wasser etwa 1000fach höhere Affinität zur Phospholipase D besitzt, wird in Gegenwart von Ethanol die Bildung von Phosphatidylethanol bevorzugt [6].

Blut, als leicht zugängliches und zellreiches Probenmaterial, scheint für die PEth-Analytik geradezu prädestiniert. Tatsächlich beruhen alle derzeit beschriebenen Verfahren auf der Extraktion der Lipidfraktionen aus Vollblut, d. h. zum überwiegenden Teil aus den Membranen der Erythrozyten. Die entsprechenden Methoden sind hinreichend beschrieben, einschließlich der anschließenden qualitativen Detektion oder quantitativen Bestimmung der PEth-Fraktionen mittels HPLC oder LC-MS [6].

Als kritisch ist zu bewerten, dass PEth eine Gruppe von mindestens 48 Subspezies repräsentiert [6]. Dies wirft nicht nur Fragen nach der Standardisierung der PEth-Bestimmung auf. Sie wären durch Auswahl eines oder mehrerer geeigneter Standards, einheitlicher Definition des PEth und Ausarbeitung entsprechender Richtlinien zu PEth-Bestimmung lösbar. Viel drängender ist die Frage, ob ggf. interindividuelle Verschiebungen in der PEth-Synthese mit Ausbildung variierender PEth-Subspecies-Muster bestehen. Dies würde einer Standardisierung nach dem beschriebenen Prinzip zu wider laufen. Patienten mit verstärkter Synthese von jenen in der PEth-Definition enthaltenen PEth-Species würden dann gegenüber solchen Patienten mit verstärkter Synthese von aus der PEth-Definition ausgeschlossenen PEth-Species, benachteiligt.

##### 4.2. Fettsäureethylester, FAEE (h)

Fettsäureethylester werden sehr schnell aus Ethanol und Fettsäuren (nicht nur freien, sondern auch in Triglyzeriden, Lipoproteinen und Phospholipiden gebundenen Fettsäuren) durch eine Reihe von Enzymen gebildet. Sie sind bereits kurz nach Ethanolaufnahme im Blut nachweisbar und können damit in dieser Matrix als Kurzzeit-Marker einer Alkoholaufnahme betrachtet werden. Über das Sebum (Talg) werden FAEE in die Haare eingelagert. Die FAEE-Konzentration in Haaren gilt deshalb als Kenngröße eines länger zurückliegenden oder langfristig erhöhten Alkoholkonsums (chronischer Alkoholmissbrauch) [7,8].

Die Society of Hair Testing hat in einem Konsensuspapier Richtlinien für die Analytik und Interpretation von FAEE als Langzeit-Marker des Alkoholkonsums erstellt [9]. Danach sind FAEE in Haaren sensitiv gegenüber Haarbehandlung bei basischem pH, beeinflusst durch Kosmetika, aber nicht durch die natürliche Haarfarbe. Als Analysenmethode wird eine Headspace GC-MS mit SPE Mikroextraktion unter Verwendung deuterierter FAEE-Standards vorgeschlagen. Zielanalyte sind Ethylmyristat, Ethylpalmitat, Ethyloleat und Ethylstearat. Chronisch exzessiver Alkoholkonsum wird angenommen, wenn die FAEE-Konzentration  $>0,5$  ng/mg im 0-3 cm oder  $>1$  ng/mg im 0-6 cm Segment des proximalen Kopfhaares ist.

Die Bildung von FAEE aus Fettsäuren und Kosmetik-Ethanol [10] ist kritisch. Falsch-positive Befunde bzgl. Alkoholmissbrauch könnten hieraus resultieren. Eine Kombination von EtG in Haaren (das von Kosmetik-Ethanol unbeeinflusst ist) und FAEE in Haaren könnte eine verbesserte diagnostische Richtigkeit bewirken (persönliche Mitteilung von Auwärter, Freiburg).

#### 4.3. Antikörper gegen PEth

Antikörper gegen PEth wurden jüngst als Biomarker des Alkoholkonsums vorgeschlagen. PEth-IgM, -IgA und -IgG waren bei starkem Alkoholmissbrauch vermindert [11]. Dies überrascht kaum, da Alkoholiker nicht selten eine reduzierte Immunantwort entwickeln. Zudem stellt sich die Frage, ob ein reduzierter Immunstatus, z. B. durch Immunsuppression nach Transplantation oder durch genetische Immundefekte, nicht Ursache für niedrige PEth-Antikörper-Konzentrationen und damit falsch-positive PEth-Antikörper-Befunde bzgl. Alkoholmissbrauch sein können.

### 5. Literatur

- [1] Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen. Jahrbuch Sucht 2011. Neuland, Geesthacht, 2011.
- [2] Arndt T, Gressner AM, Kropf J. Labordiagnostik und Kontrolle des Alkoholabusus. *Medwelt* 1994;45:247-257.
- [3] Gressner AM, Arndt T (Hrsg.). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Band 1 - Klinische Chemie*. Springer, Heidelberg, 2007.
- [4] Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3. Auflage*, Springer, Heidelberg, 2005.
- [5] Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. *Clin Chem* 2001;47:13-27.
- [6] Helander A, Zheng Y. Molecular species of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in human blood measured by LC-MS. *Clin Chem* 2009;55:1395-1405.
- [7] Auwärter V, Sporkert F, Hartwig S, Pragst F, Vater H, Diefenbacher A. Fatty acid ethyl esters in hair as markers of alcohol consumption. Segmental hair analysis of alcoholics, social drinkers, and teetotalers. *Clin Chem* 2001;47:2114-2123.
- [8] Thierauf A, Große Perdekamp M, Weinmann W, Auwärter V. Alkoholkonsummarker. *Rechtsmedizin* 2011;21:69-79.
- [9] Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption 2011. [www.soht.org](http://www.soht.org), 21.06.2011.
- [10] Gareri J, Appenzeller B, Walasek P, Koren G. Impact of hair-care products on FAEE hair concentrations in substance abuse monitoring. *Anal Bioanal Chem* 2011;400:183-188.
- [11] Nissinen AE, Laitinen LM, Kakko S, Helander A, Savolainen MJ et al. Low plasma antibodies specific for phosphatidylethanol in alcohol abusers and patients with alcoholic pancreatitis. *Addict Biol.* 2011 Feb 11. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00279.x.