

Marion Goll
Dr. sc. hum.

Das Ausscheidungsfenster und Ausscheidungsverhalten von Ethylglucuronid in Humanurin

Geboren am 14.08.1969 in Esslingen a. N.

Reifeprüfung am 09.05.1989 in Heidelberg

Studiengang der Fachrichtung Chemie-Diplom vom SS 1991 bis SS 1998

Vordiplom am 03.02.1994 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Diplom am 14.05.1998 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Rechtsmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. R. Aderjan

Ethylglucuronid, ein Phase-II-Metabolit von Ethanol beim Menschen, spielt eine bedeutende Rolle als Marker im Urin für vorangegangenen Alkoholkonsum, speziell nachdem Ethanol bereits abgebaut ist. Es fehlen aber bisher noch Kenntnisse über

- a) die Dauer seiner Nachweisbarkeit im Urin – das beispielsweise für den therapeutischen Zugang bei Alkohorrückfall wichtige Ausscheidungsfenster – und
- b) sein Verhalten bei „interner Verdünnung“ durch exzessives Trinken.

Diese Datenlücke wurde durch die vorliegende Untersuchung in Urinproben von zwei Personenkollektiven mit unterschiedlicher Alkoholaufnahme geschlossen.

Die 36 Patienten aus Kollektiv I gaben in 291 Fällen Urinproben, während ihrer stationären Behandlung nach vorangegangenem chronischen Alkoholkonsum, ab. Kollektiv 2 bestand aus 10 freiwilligen Probanden, die in wiederholten Trinkversuchen je 25 g Ethanol oral bzw. von 55,3 bis 105 g Ethanol (auf das Körpergewicht bezogen) intravenös infundiert aufnahmen.

Jede Person, die Alkohol aufgenommen hatte, schied Ethylglucuronid aus. Die Ausscheidungsdauer betrug für Kollektiv I im Mittel vier Tage ($94,5 \pm 34,1$ Stunden), in Extremfällen bis zu sechs Tagen. Nach oraler Aufnahme von 25 g Ethanol wurde Ethylglucuronid über eine Zeit von $17,8 \pm 5,1$ Stunden und unter infundierten höheren Dosen (zwischen 55,3 zu 105 g Ethanol, bezogen auf das Körpergewicht) von $27,5 \pm 10,3$ Stunden ausgeschieden. Die Ausscheidungsdauer ist nur indirekt von der Ethanoldosis abhängig. Einerseits führen die „hohen“ Ethanoldosen nicht unbedingt zu einer längeren Ausscheidung, andererseits gibt es in einzelnen Fällen Hinweise auf eine terminale Elimination, deren Ursache unklar ist. Bei den Personen im Trinkversuch konnte anhand von 19 Einzelverläufen bestätigt werden, dass die Elimination von Ethylglucuronid über den Urin – wie bereits für den Abbau im

Serum bekannt – nach einer Kinetik 1. Ordnung verläuft. Es wurde für alle Probanden eine Eliminationskonstante von $0,188 \pm 0,049$ pro Stunde (Mittelwert und Standardabweichung) gefunden, die im Mittel einer Halbwertszeit von 3,61 Stunden (im Bereich von 2,29-4,96 Stunden) entspricht. Eliminationskonstanten und Halbwertszeiten waren von der Dosis unabhängig. Mit zunehmender Dosis wurde relativ mehr Ethylglucuronid ausgeschieden: Bei 25 g Ethanol wurden $13,8 \pm 4,1$ mg ($= 0,06 \pm 0,02$ % der Ethanoldosis) Ethylglucuronid renal ausgeschieden, bei den höheren Ethanolmengen waren es $99,2 \pm 22$ mg ($= 0,14 \pm 0,04$ % der Ethanoldosis). Dies war ein unerwartetes Ergebnis. Es ist offenbar so, dass ein First-Pass-Effekt eine untergeordnete Rolle spielt, und mit zunehmender Ethanoldosis der glucuronidierte Anteil des Ethanols relativ zunimmt. Unklar ist, ob diese Unterschiede tatsächlich auf der enzymatischen Bildung des Ethylglucuronids oder nur auf einer Verschiebung des Verhältnisses von fäkal hin zu renal ausgeschiedenen Anteilen beruhen.

Zudem zeigte ein Vergleich der beiden Gruppen, bei denen die niedrigen Dosen (25 g Ethanol) oral und die hohen Dosen parenteral verabreicht wurden, dass die erwartete Erhöhung der Glucuronidierung bei der oralen Aufnahme nicht gegeben war. Bei fünf Probanden fanden sich im Wiederholungsversuch kaum Unterschiede bezüglich der Ausscheidungsdauer, der Eliminationskonstanten und der Halbwertszeit des Ethylglucuronids.

Im Experiment zur „internen Verdünnung“ tranken die Probanden von Kollektiv II nach Aufnahme einer Ethanoldosis von 25 g nach vier Stunden einen Liter Wasser. Die erhöhte Flüssigkeitszufuhr vor Abgabe einer Urinprobe führte innerhalb von einer Stunde zu einem dramatischen Abfall der Kreatinin-Konzentration im Urin. Parallel dazu fielen auch die EG-Konzentrationen auf Werte im Bereich der Nachweisgrenze. Dies verdeutlicht die Wichtigkeit der sorgfältig kontrollierten Urinabgabe für Untersuchungen zur Überprüfung der Alkoholabstinenz bzw. -karenz. Für kontrollierte Vergleichszwecke wird eine Normierung der EG-Konzentrationen auf einen realistischen Kreatinin-Wert von 100 mg/dL vorgeschlagen, um den Flüssigkeitseinfluss gegebenenfalls auszugleichen.

Für die praktische Arbeit wurde die Stabilität des Analyten im Urin unter laborüblicher Lagerungsbedingungen und -zeiträume geprüft. Es wurde zudem eine hochdruckflüssigkeitschromatographisch-massenspektrometrische Methode mit einer neuen, die Matrixbelastung des Massenspektrometers durch Extraktrückstände des Urins reduzierende Probenvorbereitung mit Festphasenextraktion entwickelt bzw. validiert. Ethylglucuronid erwies sich innerhalb von zwei Monaten bei Raum- und Kühlschranktemperatur (4 °C) und bei -24 °C innerhalb eines Jahres als stabil. Es wurde durch die neue Methode eine Senkung der Nachweisgrenze für Ethylglucuronid im Urin von 0,07 mg/L auf 0,04 mg/L im Vergleich zur gaschromatographisch-massenspektrometrischen Bestimmung erreicht. Sie erlaubt zudem den Einsatz größerer Mengen an Probenmaterial.