

Aus der Universitäts- Kinder- und Jugendklinik Rostock

Geschäftsführender Direktor (kommissarisch): Prof. Dr. med. Manfred Ballmann

**Der Effekt eines moderaten Rotweinkonsums auf die  
mitochondriale und mikrosomale Entgiftungskapazität der Leber  
untersucht mittels  
eines 2-Keto[1-<sup>13</sup>C]isocaprinsäure- bzw. eines  
[N-1,3,7-Trimethyl-<sup>13</sup>C]coffein-<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Atemgastestes**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

- Doktor der Medizin -

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

Anne-Kathrin Neururer

aus Rostock, Mecklenburg-Vorpommern

Rostock, September 2024

**Gutachter:**

Prof. Dr. rer. nat. habil. Klaus D. Wutzke, ehemaliger Leiter des Forschungslabors (Ernährungsmedizin) der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsmedizin Rostock

Prof. Dr. med. Dipl. Chem. Jochen K. Schubert, Ehemaliger Stellvertretender Klinikdirektor der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsmedizin Rostock

PD Dr. med. Jonas Denecke, Leiter Pädiatrische Neurologie der Werner und Michael Otto Universitätskinderklinik, Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf

**Jahr der Einreichung:** 2024

**Jahr der Verteidigung:** 2025

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Rotwein und seine protektiven Effekte .....	2
1.1.1	Wichtige Studien zu moderatem Alkohol- und Weinkonsum und deren gesundheitsfördernden Effekte .....	3
1.2	Alkoholkonsum in Deutschland und dessen negative Auswirkungen auf die Gesundheit.....	5
1.3	Metabolisierung von Ethanol .....	7
1.4	Beurteilung der Leberfunktion .....	9
1.4.1	Bedeutung des Leberstoffwechsels .....	9
1.4.2	Leberdiagnostik.....	10
1.4.2.1	Biochemische Laborparameter .....	10
1.4.2.2	Klinische Klassifikationssysteme .....	11
1.4.2.3	Dynamische quantitative Leberfunktionstests.....	12
1.5	Stabile Isotope.....	13
1.6	$^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests .....	13
1.6.1	2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure- Atemgastests.....	14
1.6.2	[N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein- Atemgastests .....	14
1.7	Ziel der Arbeit .....	15
2	Material und Methoden .....	16
2.1	Probanden.....	16
2.1.1	Tabellarische Darstellung der probandenspezifischen Angaben .....	17
2.2	Ausschlusskriterien.....	17
2.3	Material.....	18

2.3.1	Tracer .....	18
2.3.1.1	2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure ( <sup>13</sup> KIC) .....	18
2.3.1.2	L-Leucin.....	19
2.3.1.3	[N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein ( <sup>13</sup> Cof) .....	20
2.4	Versuchsdurchführung .....	21
2.4.1	Dauer .....	21
2.4.2	Schema der Tracereinnahme.....	21
2.4.3	Zusammensetzung des Abendessens .....	22
2.4.4	Ablauf des Testtages .....	22
2.5	Messmethode .....	23
2.6	Berechnungen .....	23
2.6.1	Delta over Baseline (DOB).....	24
2.6.2	Kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation .....	24
2.6.2.1	Berechnung der Dosis .....	24
2.6.2.2	Berechnung des $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -Wertes .....	24
2.6.2.3	Berechnung der kumulativen prozentualen <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation .....	25
2.6.3	Statistische Auswertung.....	25
3	Darstellung der Ergebnisse.....	26
3.1	Die <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeit nach 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum .....	26
3.2	Die <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeit nach [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein ohne und mit Rotweinkonsum .....	26
3.3	Mittelwerte der <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeits-Spitzenwerte nach 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum.....	28
3.4	Mittelwerte der <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeits-Spitzenwerte nach [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum .....	29
3.5	Durchschnittliche Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks nach 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure.....	31

3.6	Durchschnittliche Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks nach [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein .....	31
3.7	Kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation nach 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum .....	33
3.8	Kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum .....	33
3.9	Die <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeit und kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation nach 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure-Gabe in Abhängigkeit der Einnahmetage ohne und mit Alkoholeinfluss. ....	35
3.10	Die <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeit und kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein-Gabe in Abhängigkeit der Einnahmetage ohne und mit Alkoholeinfluss. ....	37
3.11	Zusammenfassende Darstellung der <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Häufigkeit und kumulativen prozentualen Exhalation von 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure und [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein .....	39
4	Diskussion.....	42
4.1	Diskussion des Studiendesigns.....	42
4.1.1	Testdurchführung.....	42
4.1.2	Rekrutierung der Probanden und Versuchsbedingungen .....	42
4.1.3	Verwendung des Nicht-dispersiven-Infrarot-Spektroskops .....	43
4.2	Diskussion der Tracersubstanzen .....	44
4.2.1	Kombination von 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure und [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein .....	44
4.2.2	Metabolisierungswege der Tracersubstanzen .....	44
4.2.2.1	Metabolisierung von 2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure .....	45
4.2.2.2	Metabolisierung von [N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein .....	45
4.2.3	Externe Einflussfaktoren der Testergebnisse .....	47
4.2.3.1	Einfluss der Nahrungsaufnahme auf die <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation.....	47
4.3	Diskussion von Interaktionen.....	49

---

4.3.1	Interaktionen zwischen $^{13}\text{C}$ -Ketoisocaprinsäure und Alkohol.....	49
4.3.2	Interaktionen zwischen [ $^{13}\text{C}_3$ ]coffein und Alkohol.....	50
4.4	Diskussion der Messwerte.....	51
4.4.1	Die $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit nach Tracer-Einnahme.....	51
4.4.2	Differenzen der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure .....	52
4.4.3	Differenzen der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein .....	55
4.5	Diskussion des Rotweineinflusses.....	59
4.5.1	Einfluss des Rotweins auf den $^{13}\text{KIC}$ -Atemgastest .....	59
4.5.2	Einfluss des Rotweins auf den $^{13}\text{Cof}$ -Atemgastest.....	60
4.6	Praxisrelevanz der $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests.....	61
4.6.1	Nutzung des $^{13}\text{KIC}$ -Atemgastests .....	62
4.6.2	Nutzung des $^{13}\text{Cof}$ -Atemgastests.....	63
5	Zusammenfassung.....	65
6	Thesen.....	69
7	Literaturverzeichnis.....	72
8	Abkürzungsverzeichnis .....	83
9	Abbildungsverzeichnis .....	85
10	Tabellenverzeichnis .....	87
11	Anhang .....	88
11.1	Probandeninformation .....	88
11.2	Atemtestprotokoll (6-Stunden-Version).....	89
	Selbstständigkeitserklärung .....	90
	Lebenslauf.....	91
	Danksagung .....	92

# 1 Einleitung

Der Konsum von Alkohol ist seit mehreren Jahrhunderten Bestandteil unseres gesellschaftlichen und kulturellen Lebens. Zu vielen verschiedenen Anlässen, seien es z.B. Feiern oder gesellschaftliche Veranstaltungen, werden alkoholische Getränke gereicht. Die berauschende Wirkung erleichtern Kommunikation, soziale Kontakte, stimulieren Lebensfreude und führen zu Entspannung (1).

So ist auch Rotwein als Genussmittel zu Abendessen oder Festen nicht mehr wegzudenken. Doch was bewirkt der gegorene rote Traubensaft auf unseren Körper? Inwieweit wird die Leberfunktion unter Rotweineinfluss beeinträchtigt und insbesondere, ist es möglich aussagekräftige Daten zu erfassen ohne die Person durch invasive Maßnahmen wie eine Blutentnahme oder eine Gewebepunktion zu verletzen und zusätzlich zu stressen?

Um diesen Fragen auf den Grund zu gehen, wurden bereits zahlreiche Studien unter Verwendung von  $^{13}\text{C}$ -markierten humanen Substanzen in Atemtests veröffentlicht (2,3). Das gastroenterologische Diagnosespektrum konnte infolgedessen erheblich bereichert werden.

Vor vier bis fünf Jahrzehnten wurden  $\text{CO}_2$ -Atemgastests mit dem radioaktiven Kohlenstoffisotops  $^{14}\text{C}$  entwickelt um die Darmresorption, die exokrine Pankreasfunktion und die Leberfunktion zu beurteilen. Aber aufgrund des Strahlenrisikos wurde  $^{14}\text{C}$  zusehends durch das stabile Isotop  $^{13}\text{C}$  in den Tests ersetzt.

Die Leber gilt als wichtiger Knotenpunkt vieler Stoffwechselprozesse in unserem Körper. Dazu gehören unter anderen die Proteinsynthese, die Speicherung und Bereitstellung von Glykolipiden sowie die Entgiftung. Die Entwicklung von  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests ( $^{13}\text{C}$ -AT) dienen zur schnellen, indirekten und nichtinvasiven Beurteilung unterschiedlicher Leberstoffwechselvorgänge. In Mitochondrien, Mikrosomen sowie im Zytosol können  $^{13}\text{C}$ -ATs das Vorkommen von markierten  $^{13}\text{CO}_2$  in der Atemluft für einen speziell in der Leber metabolisierten Stoff überwachen. Über Substanzen wie  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -Ketoisocaproensäure, Octansäure oder Methionin erhalten wir Informationen über die dynamische Leberfunktion in den Mitochondrien. Mit  $^{13}\text{C}$ -markiertem Coffein, Aminopyrin und Methacetin lassen sich die dynamische Funktion der Lebermikrosomen testen (4). Die Verwendung von  $^{13}\text{C}$ -ATs reicht in vivo von

nichtalkoholischen sowie alkoholischen Lebererkrankungen bis hin zu Leberzirrhose, dem hepatozellulärem Karzinom (HCC), medikamenteninduzierten Leberschäden und prä- und postoperativer Bewertung der Leberfunktion (5,6)

Mit Hilfe von  $^{13}\text{C}$ -ATs können durch eine kosteneffektive, indirekte und nicht-invasive Methode verschiedene gastroenterologische Prozesse (Magenkinetik, Leberfunktion, exokrine Pankreasfunktion, bakterielle Fehlbesiedlung, etc.) bewertet werden. Neue Studien konzentrieren sich auf weitere mögliche Anwendungen in der klinischen Praxis.

## **1.1 Rotwein und seine protektiven Effekte**

Seit vielen Jahrhunderten ist Wein weltweit beliebt. Nach In-vitro- sowie In-vivo-Studien konnte nachgewiesen werden, dass ein bestimmtes Maß an täglichem Weinkonsum diversen chronische Krankheiten vorbeugen kann (7). Dies ist teilweise auf die Existenz wichtiger schützender Bestandteile, wie z.B. Antioxidantien, im Rotwein zurückzuführen.

Für eine effiziente Herz-Kreislauf-Funktion sind diese Antioxidantien essentiell. Vor allem in Pflanzen und Früchten sind sie vorhanden und können im Verzehr derer Folgeprodukte das Risiko von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes und einige Krebsarten verringern (8). Eine blutdrucksenkende Wirkung des Rotweinkonsums ist ebenfalls nachgewiesen (9).

Dementsprechend wurde sich in der Forschung auf Polyphenole, wie Resveratrol, Anthocyane, Catechine und Tannine konzentriert. Der Gehalt von Polyphenolen ist beispielweise abhängig von der Rebsorte. Rotweine enthalten in der Regel mehr Polyphenole als Weißweine (10). Mehrere Studien, z.B. Schini-Kerth et al. und Qureshi et al. (11,12) erforschten die positiven Auswirkungen auf den regelmäßigen Verzehr von polyphenolreichen Getränken und Nahrungsmitteln, wie Rotwein, Tee, Kaffee, Schokolade, Nüsse und Gemüse. Es wurden viele Weinsorten untersucht, um herauszufinden, welche Weine am polyphenolreichsten sind. Montsko et al. (13) fanden heraus, dass die Rotweine St. Laurent und Pinot Noir am gehaltvollsten an Trans-Reseveratrol waren und die tägliche moderate Dosis dieser Rebsorten bei 0,2 l für Frauen und 0,3 l für Männer lag, um protektiv zu wirken.

Weitere wesentliche Bestandteile von Wein sind Wasser, Alkohol, Kohlenhydrate, Mineralien, organische Säuren und Aromastoffe (14).

Eines der am meisten untersuchten und wichtigsten Polyphenole ist Resveratrol. Dieses neutralisiert reaktive stickstoffhaltige Radikale ( $\text{NO}^+$ ) sowie reaktive Sauerstoffspezies, reduziert die Lipidperoxidation und wirkt sich dadurch präventiv auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen aus. Die Endothelfunktion und der Glukosestoffwechsel werden verbessert, Entzündungen verringert und Blutfette reguliert (9,15). Des Weiteren passiert das Polyphenol die Blut-Hirn-Schranke und schützt so die Nervenzellen und das Gehirn. Es vermindert die Thrombozytenaggregation und wirkt so der Entstehung von Thromben und Blutgerinnseln entgegen (16).

### **1.1.1 Wichtige Studien zu moderatem Alkohol- und Weinkonsum und deren gesundheitsfördernden Effekte**

Der Zusammenhang von Alkohol- und Weinkonsum und deren Auswirkungen auf die Gesundheit wurde von vielen Forschern schon oft untersucht.

In Hinsicht auf das kardiovaskuläre System wurde in einer experimentellen Studie an Schweinen von Elmadhun et al. (17) nachgewiesen, dass Ethanol in gemäßigten Dosen das Wachstum neuer Gefäße im nichtischämischen Herzmuskel fördert. Weiterhin zeigte sich bei Toth et. al. (18), wie wesentlich eine definierte Alkoholdosis und deren Einnahmedauer ist. Es wurden 39 gesunde Probanden über 3 Wochen beobachtet. Eine Testgruppe trank Wasser, die andere täglich 0,2 l Rotwein. Nach drei Wochen konnte bei den Rotwein trinkenden Probanden eine Abnahme der Erythrozytenaggregation sowie eine gesteigerte Verformbarkeit derer unter hohen Scherkräften festgestellt werden. Auch hier konnten die positiven Auswirkungen bei moderatem Rotweinkonsum auf hämatologische Parameter und folgend für Herz-Kreislauf-Erkrankungen dargestellt werden.

In der Studie von Platasa et al. (19) wurde ebenfalls die protektive Wirkung eines moderaten Rotweinkonsums untersucht. Probanden tranken in getrennten Experimenten 0,2 l Rotwein und 0,2 l eines Kontrollgetränks mit 13,5 Vol.-% Alkohol. Die direkte Wirkung der beiden Getränke war gleich. Es zeigte sich eine Erhöhung des diastolischen und systolischen Blutdrucks mit einer Normalisierung der Messwerte nach 10 Minuten. Jedoch ergab sich in der anhaltenden Wirkung, dass der Wein den

Blutdruck senkte und schwankende Kammererregungszeiten (QT-Variabilität) in der Herzaktion verringerte. Matsumoto et al. (20) konnte unter moderatem Alkoholkonsum nachweisen, dass der Verzehr von 0,15 l Wein oder 0,33 l Bier oder 0,03 l Schnaps das Risiko für eine Myokardischämie, Kardiomyopathie und Gesamtsterblichkeit verringert.

Tabelle 1 zeigt eine Aufstellung von durchgeführten Studien über moderate Dosen von Rotwein oder anderem Alkohol und deren positive gesundheitlichen Auswirkungen.

Studie	Dosis und Art des Alkohols	Effekt
Platisa et. al. (19)	0,2 l Rotwein	Verringerung von arterieller Hypertension und des systolischen und diastolischen Blutdrucks bei anhaltendem Konsum
Matsumoto et.al. (20)	0,15 l Rotwein, 0,33 l Bier oder 0,03 l Schnaps	Geringeres Risiko von Myokardischämie, Kardiomyopathie, Gesamtmortalität
Toth et. al. (18) Djousse et al. (21)	0,2 l Rotwein	Kardioprotektive Wirkung, positive Effekte auf die koronare Herzkrankheit
Droste et. al (22)	0,1 l (Frauen) 0,2 l (Männer) Rotwein	Unabhängige Verbesserung der LDL/HDL-Ratio bei Patienten mit Arteriosklerose
Chu et. al. (23)	0,375 l Rotwein oder 0,1 l Wodka (Schweine)	Verringertes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen
Vilahur et. al. (24)	0,15 l (Frauen), 0,45 l (Männer) Rotwein	Verbesserung Lipidstoffwechsel, antioxidativer Zustand und endotheliale Funktion Reduktion von Entzündungen und Atherosklerose

**Tabelle 1:** Zusammenfassung empfohlener Dosen von Rotwein oder anderem Alkohol und deren positive Auswirkungen auf die Gesundheit.

Zu betonen ist, dass es sich in den Studien immer um einen leichten bis gemäßigten Alkoholkonsum handelte. Ein höherer oder exzessiver Alkoholkonsum steigert das Risiko für Kardiomyopathie, plötzlichen Tod und hämorrhagische Schlaganfälle, welches die potenziellen Vorteile wieder aufhebt. Negative Aspekte von Alkohol und dessen Konsum sollen im nächsten Abschnitt näher erläutert werden.

## **1.2 Alkoholkonsum in Deutschland und dessen negative Auswirkungen auf die Gesundheit**

Der Pro-Kopf-Verbrauch von Alkohol betrug in Deutschland 2021 120,8 l. Davon wurde am häufigsten Bier mit 91,7 l getrunken, gefolgt von Wein mit 20,7 l. Schaumweine (5,2 l) und Spirituosen (3,2 l) wurden am wenigsten verzehrt (25).

Im Vergleich zu den letzten Jahren hat sich der regelmäßige Alkoholkonsum der Deutschen verringert und auch die tägliche Menge am Alkohol ist weniger geworden (26). Nichtsdestotrotz zählt Deutschland zu den Hochkonsumländern und liegt im Verbrauch von Reinalkohol über dem Durchschnitt der europäischen Staaten.

Weltweit wird gesundheitsschädigender Alkoholkonsum zu den fünf wichtigsten Risikofaktoren für Beeinträchtigungen, Krankheiten und Todesfälle gezählt. Bei mehr als 200 Krankheiten wird ein übermäßiger Alkoholkonsum als mitverursachend angesehen. Für die einzelne Person stehen akute und chronische Organ- und Gewebeschäden im Vordergrund, ausgelöst durch die toxische Wirkung von Alkohol, welche sich von einer akuten Alkoholintoxikation (ICD 10 F10.1) bis hin zu einer Alkoholabhängigkeit (ICD 10 F10.2) entwickeln können. Als ein riskanter Alkoholkonsum werden Alkoholtrinkmengen definiert, die das Risiko für Schäden auf die psychische und körperliche Gesundheit erhöhen. Das wissenschaftliche Kuratorium der Deutschen Hauptstelle für Suchtfragen (DHS) empfiehlt Grenzwerte für den täglichen Alkoholkonsum. Auch in der Studie von Burger et al. (2004) wurde die oberen tolerierbaren Alkoholgrenzwerte für die deutsche Bevölkerung erhoben (14,27,28).

Empfohlene tägliche Menge an Reinalkohol (14,27,28):

Frauen: > 10 - 15 g

Männer: > 20 - 30 g

Bei ca. 17 Erkrankungen, zusammengefasst durch das Deutsche Institut für Medizinische Dokumentation und Statistische Bundesamt, ist Alkohol die ausschließliche Ursache zur Entstehung dieser Erkrankungen.

Darunter zählen (26):

- Psychische und Verhaltensstörungen durch Alkohol (ICD 10, F10),
- Alkohol-Polyneuropathie (ICD 10 G62.1),
- Degeneration des Nervensystems durch Alkohol,
- Niazinmangel (ICD 10 E52),
- Alkoholinduziertes Pseudo-Cushing-Syndrom (ICD 10 E24.4),
- Alkoholische Kardiomyopathie (ICD 10 I42.6),
- Alkoholgastritis (ICD 10 K29.2),
- Alkoholische Leberkrankheit (ICD 10 K70),
- Alkoholinduzierte chronische Pankreatitis (ICD 10 K86.0)
- Alkoholinduzierte akute Pankreatitis (ICD 10 K85.2)

Für die vorliegende Studie soll insbesondere die Entwicklung von möglichen Leberfunktionsstörungen und die alkoholische Lebererkrankung (ALE) bei mäßigen und chronischem Alkoholkonsum näher betrachtet werden. Unter der ALE zählen die alkoholische Fettleber, welche zur alkoholischen Steatohepatitis (ASH) oder direkt in eine Fibrose und anschließend in eine alkoholische Leberzirrhose (ALZ) übergehen kann. Zudem entwickeln Patienten mit ALZ zu 1-2% ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) (29).

Die Pathogenese der alkoholischen Lebererkrankung beginnt nach Ausschöpfen der enzymatischen Alkoholdehydrogenase-Aktivität (ADH). Nach hohem oder chronischem Alkoholkonsum erfolgt der zusätzliche Alkoholabbau über das Enzym Cytochrom P450 (CYP2E1). Durch Hochregulierung von CYP2E1 kann die Verstoffwechslung von anderen Substanzen verringert sein, welches beispielsweise zu einer gesteigerten Medikamententoxizität durch Alkoholabusus führen kann.

Ethanol wird mittels ADH oder CYP2E1, unter Verbrauch von Sauerstoff, zu Acetaldehyd oxidiert. Dieses Acetaldehyd gilt als lebertoxisch und ist bei chronischen Alkoholkonsum erhöht. Es schädigt Zellskelettkomponenten und Zellmembranen, steigert die Kollagensynthese und beeinträchtigt den mitochondrialen Elektronentransport.

Der entstehende Sauerstoffmangel führt zu einer Lappchenzentralen Hypoxie. Zudem kommt es zu Fetteinlagerungen in die Hepatozyten aufgrund eines ungenügenden Fettsäureabbaus. Das überschüssige Acetyl-CoA dient zur Synthese von Fettsäuren in der Leber. Eine Fettleber entsteht. Folgend wird durch Chemokine eine Fettleberhepatitis induziert. Kollagenfasern werden interstitiell gebildet und führen zur Entstehung einer Fibrose und Zirrhose (29,30).

Fortführend soll in dieser Arbeit der Abbau von Ethanol genauer erläutert werden.

### **1.3 Metabolisierung von Ethanol**

Ethanol (Ethylalkohol) stellt in unserer Gesellschaft ein Genussmittel dar und sollte unserem Körper weniger als Nährstoff dienen. Trotz dessen sollte man den hohen Energiegehalt von Ethanol in der Energiebilanz des Körpers berücksichtigen. Dieser beträgt auf 1g Alkohol 30 kJ (7,1 kcal).

Bereits im Mund beginnt die Resorption von Alkohol, folgend vom oberen Magen-Darm-Trakt, welche mit deutlichen individuellen Unterschieden verbunden sein kann. Zu einer Verlangsamung der Alkoholresorption kann es kommen, wenn währenddessen oder zuvor Nahrung aufgenommen wurde. Stattdessen ist es unter Kombination mit Kohlensäure, Erwärmung des alkoholhaltigen Getränks oder im nüchternen Zustand möglich die Resorption zu beschleunigen (31).

Der Abbau von Ethanol erfolgt zu ca. 90-96 % über drei verschiedene Enzym-Systeme in der Leber. Andere verstoffwechselnde Organe sind die Lunge, die Niere sowie die Haut. Ethanol ist hydrophil und verteilt sich daher schnell im intra- und extrazellulären Körperwasser. Es erfolgt keine Anreicherung im Fettgewebe. Die Metabolisierung von Ethanol ist konzentrationsunabhängig und folgt konstant der Kinetik 0. Ordnung (32).

Das wohl bedeutendste Enzym ist die Alkoholdehydrogenase (ADH), welches den größten Anteil der Oxidation bei „Gelegenheitstrinkern“ übernimmt. Durch das

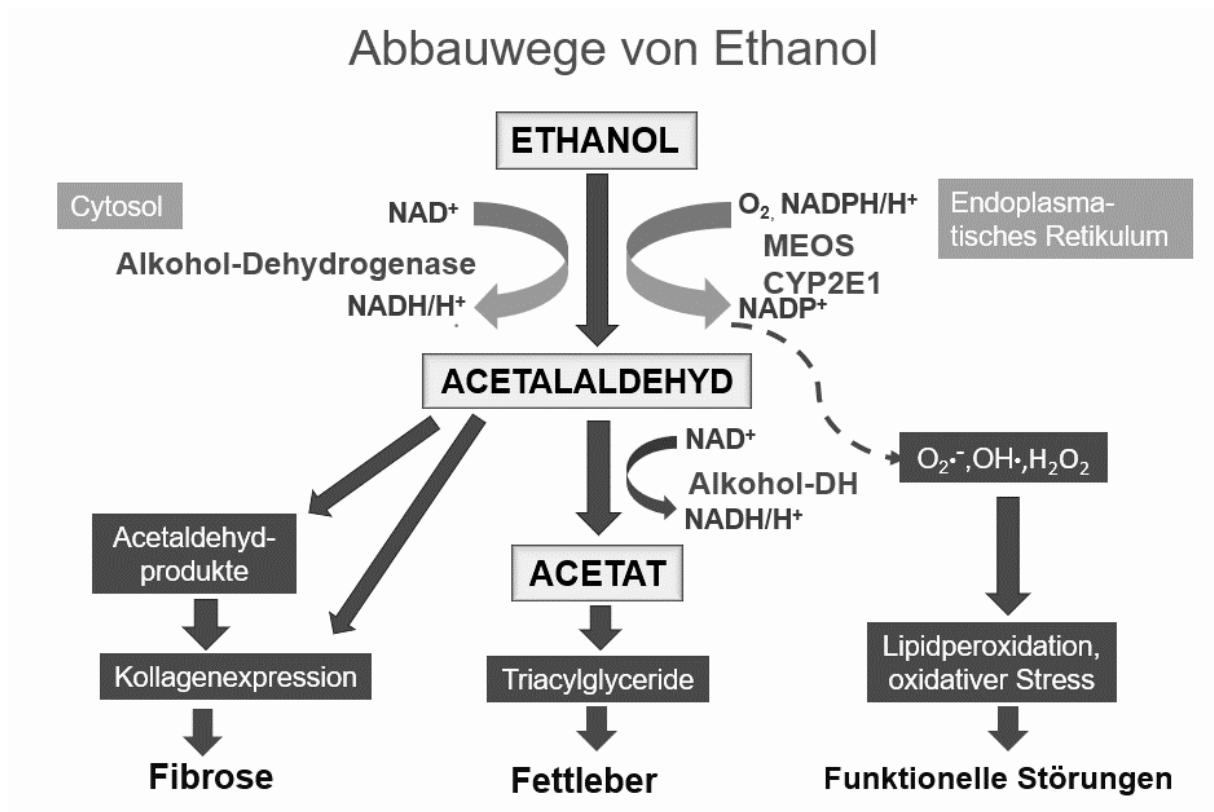
Vorhandensein von verschiedenen Isoformen, welche in unterschiedlichen ethnischen Gruppen vorkommen können, lässt sich eine variable Eliminationsgeschwindigkeit des Ethanols erklären. Es wird im Cytosol über die Alkoholdehydrogenase (ADH1)  $\text{NAD}^+$  - abhängig zu Acetaldehyd oxidiert, welches weiter über eine mitochondriale ADH (ADH2) zu Acetat überführt wird. Acetat kann dann in die Fettsäure-Synthese oder in den Citratzyklus aufgenommen werden.

Die sich in den Peroxisomen befindliche Katalase findet eher eine untergeordnete Rolle bei dem Abbau von Ethanol.

Des Weiteren existiert die Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenase CYP2E1. Es befindet sich im endoplasmatischen Retikulum und wird insbesondere bei starkem Alkoholkonsum oder chronischen Alkoholabusus induziert. Man bezeichnet es auch als „microsomal ethanol-oxidizing system“, kurz MEOS. Auch andere Xeno- und Endobiotika wie z. B. Paracetamol, Sevofluran werden durch die Induktion von CYP2E1 gesteigert metabolisiert (32).

Unter Verbrauch von Reduktionsäquivalenten und Sauerstoff kommt es bei diesem Abbauweg zur Bildung von Sauerstoffradikalen und somit zu oxidativem Stress. Dieser fördert unter Lipidperoxidation Membranschäden und hat die Apoptose der Leberzellen zur Folge.

Ein chronischer Alkoholabusus führt über intrazelluläre Stoffwechselfvorgänge zu verschiedenen pathologischen Umbauprozessen. Durch die Umwandlung und Proliferation hepatischer Kupfer-Sternzellen zu myofibroblastenartigen Zellen, kann unter einer gesteigerten Kollagenexpression eine Fibrose entstehen. Zusätzlich führt eine Hemmung der Fettsäureoxidation und Steigerung der Glycerin-3-Phosphat-, Ketonkörper- und Fettsäuresynthese zu einer Akkumulation der synthetisierten Triacylglyceride, welches die Bildung der Fettleber begünstigt (31).



**Abbildung 1:** Darstellung der verschiedenen Abbauwege von Ethanol und mögliche gesundheitsschädliche Auswirkungen

## 1.4 Beurteilung der Leberfunktion

### 1.4.1 Bedeutung des Leberstoffwechsels

Die Leber ist die größte Drüse im menschlichen Organismus und ist für den Intermediärstoffwechsel zuständig. Dieser bildet die Verbindung zwischen Anabolismus und Katabolismus. Es gibt vielfältige Funktionen die der Leber zugeordnet werden können (31:770)

- Biotransformation, Entgiftung von körpereigenen und körperfremden Substanzen
- Erhaltung der Aminosäuren-, Glucose-, Säure-Basen- sowie Ammoniakhomöostase
- Plasmaproteinsynthese
- Speicherung von Vitaminen und Spurenelementen

- Oxidation von Ethanol
- Synthese von Gallensäuren
- Fettsäuresynthese und Bildung von Lipoproteinen (VLDL, very low density lipoproteins)

### 1.4.2 Leberdiagnostik

Zur Beurteilung der Leberfunktion stehen unterschiedliche diagnostische Mittel zur Verfügung (30)

Dazu zählen:

- bildgebende Verfahren: Sonografie (Endosonografie, Kontrastmittel-Sonografie, Elastografie), endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie (ERCP), CT und MRT
- biochemische Laborparameter
- klinische Klassifikationssysteme
- dynamische quantitative Leberfunktionstests
- invasive Diagnostik: sonografieunterstützte perkutane Leberbiopsie, Angiografie, Laparoskopie

#### 1.4.2.1 Biochemische Laborparameter

Die wohl geläufigste Erfassung der Leberfunktion erfolgt über biochemische Laborparameter. Hierbei können drei Unterklassen unterschieden werden. Zu nennen sind die Alanin-Aminotransferase (ALAT) und die Aspartat-Aminotransferase (ASAT), welche vor allem strukturelle Leberzellschäden aufzeigen und teilweise das Ausmaß der Schädigung darstellen können. Während ALAT leberzellspezifisch ist, kommt ASAT in Leber, Herz, Muskel und Erythrozyten vor. ALAT und ASAT sind im Leberzellzytoplasma vorhanden, ASAT zusätzlich in den Mitochondrien. Um abschätzen zu können, ob eine leichte oder schwere Leberzellschädigung vorliegt, kann der De-Ritis-Quotient berechnet werden:  $ASAT/ALAT$ . Liegt dieser über dem Wert 1, kann unter Mitbeteiligung der Mitochondrien (ASAT ebenfalls erhöht) von einer schweren Schädigung ausgegangen werden. Die Glutamatdehydrogenase (GLDH) ist

ein weiterer Parameter für schwere Leberzellschädigungen, welche ausschließlich in den Mitochondrien vorkommt.

Um die Gallenbildung und -sekretion (Cholestase) beurteilen zu können, werden die Parameter  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT), Alkalische Phosphatase und Bilirubin bestimmt. Hierbei gilt die  $\gamma$ -GT als sensitivster Indikator der alkoholtoxischen Leberveränderung, aber auch bei anderen Störungen der Gallenwege und der Leber dient sie als empfindlichster Parameter.

Zur Bestimmung der Syntheseleistungen der Leber können die Cholinesterase (CHE), vitamin-K-abhängige Gerinnungsfaktoren (Quick-Wert) und Albumin betrachtet werden. Bei Verminderung der Parameter kann eine Leberzellschädigung (z. B. Leberzirrhose) oder ein Mangel an Substraten (z. B. Vitamin K) vorliegen.

Die Entgiftungsleistung kann unter anderem durch den Ammoniakspiegel gemessen werden. Ein erhöhter Wert zeigt eine verminderte Entgiftungskapazität und tritt vor allem bei fortgeschrittener Leberinsuffizienz auf (30).

#### **1.4.2.2 Klinische Klassifikationssysteme**

Unter den klinischen Klassifikationssystemen werden der Child-Pugh- und MELD-Score gezählt. Sie verbinden verschiedene biochemische Parameter mit klinischen Symptomen einer gestörten Leberfunktion. Der Child-Pugh-Score dient zur Prognoseeinstufung einer Leberzirrhose und kann zur Entscheidung einer Resektion oder Transplantation beitragen. Bestandteile sind der Plasmabilirubin- und Plasmaalbuminspiegel, der Quick-Wert, die sonographisch nachgewiesene Aszites und der Grad der hepatischen Enzephalopathie. Die Einteilung erfolgt nach Punkten in Child A, B und C, wobei Child C die schlechteste Prognose aufweist (Überlebenserwartung im 1. Jahr von 40%). Der MELD-Score (model for end-stage liver disease) schätzt die 3-Monatsmortalität bei terminaler Leberinsuffizienz ab und bestimmt die Wartezeit für eine Lebertransplantation. Er setzt sich zusammen aus Serumkreatinin, Serumbilirubin und INR-Wert (International Normalized Ratio) (33,34)

### 1.4.2.3 Dynamische quantitative Leberfunktionstests

Während bei der klinisch-chemischen Diagnostik hauptsächlich, je nach Parameter, die Zellnekrose, die metabolische Insuffizienz oder Einschränkungen der Cholestase wiedergegeben werden können, stellen quantitative Tests die metabolischen Partialfunktionen über einen bestimmten Zeitraum dar (33,35). Sie sind ein genaueres Maß für die spezifischen Aspekte der Leberfunktion und können bei der Verlaufsbeobachtung des Grades der Leberschädigung hilfreich sein. Sie eignen sich aber nicht für die Erstdiagnose von Lebererkrankungen. Zudem ist deren Durchführung meist teurer und aufwendiger als konventionelle biochemische Untersuchungen (36).

Die Verwendung von selektiven, nicht-toxischen Substanzen (Medikamente, Zucker, Farbstoffe) ist eine wertvolle Methode, um die hepatischen Stoffwechselraten zu bestimmen. Darunter zählen beispielsweise Untersuchungen mit Farbstoffen wie der Indocyaningrün-Test (ICG) oder der Sulfobromophthalein-Test (BSF).

Die Galaktose-Eliminationskapazität kann frühzeitig zur Unterscheidung des Ikterus zwischen einer biliären Obstruktion und einer hepatozellulären Erkrankung verwendet werden. Der Antipyrin-Clearance-Test korreliert mit dem Grad der Leberschädigung, der Coffein-Clearance-Test kann bei schweren Leberschädigungen von Nutzen sein. Ein weiterer erwähnenswerter Test ist der MEGX-Test (Monoethylglycinxylylid), welcher zur Kontrolle der Leberfunktion insbesondere vor und nach Lebertransplantationen dient. Dabei wird Lidocainhydrochlorid i.v. verabreicht und dessen Metabolit MEGX vor und nach Gabe im Serum gemessen. Eine reduzierte MEGX-Konzentration spricht für eine Leberfunktionsstörung (37).

All diese Tests messen den Metabolisierungsprozess jener Substanz, welche selektiv von der Leber metabolisiert wird, erheben aber nur die gesamte Leberkapazität (36).

Des Weiteren gibt es nuklearmedizinische Untersuchungen wie die  $^{99m}\text{Tc}$ -Galactosyl-Serum-Albumin-Szintigraphie und  $^{99m}\text{Tc}$ -Mebrofenin-Szintigraphie.

Diese sind in der Lage Leberresektionen, die Gesamt- als auch die spätere Restleberfunktion zu messen sowie Patienten zu identifizieren, die ein erhöhtes Risiko haben ein postresektionales Leberversagen zu erleiden (33).

Auch  $^{13}\text{C}$ -Atemtests werden den dynamisch quantitativen Leberfunktionstests zugeordnet. Die mikrosomalen, cytosolischen und mitochondrialen Stoffwechselprozesse können über verschiedene Substrate selektiv beurteilt werden.

## 1.5 Stabile Isotope

In der Natur kommt das Isotop  $^{13}\text{C}$  im Verhältnis zu allen Kohlenstoffatomen mit einer Häufigkeit von ca. 1,11% vor. Bei Untersuchungen mit stabilen Isotopen ist es wichtig die physiologisch vorhandene  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit zu beachten, da eine zusätzliche Gabe des stabilen Isotops  $^{13}\text{C}$  in Form von bestimmten Nahrungsmitteln zu einer natürlichen Erhöhung der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit in den Körperkompartimenten führt (35).

## 1.6 $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests

$^{13}\text{CO}_2$ -Atemtests können zur Erweiterung des diagnostischen Spektrums dienen. Darunter ist es möglich in vivo, gezielt nicht-invasiv, menschliche und auch bakterielle Enzymsysteme, Organfunktionen sowie medikamentöse Interaktionen semiquantitativ zu erfassen (4). Nach oraler Gabe eines  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrats erfolgt die Messung des  $^{13}\text{C}$ -Metaboliten in der Ausatemluft. Über ein spezifisches Enzymsystem wird das Substrat abgebaut, so dass indirekt die Enzymaktivität durch die Bestimmung von  $^{13}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft ermittelt werden kann. Es bestehen verschiedene Verfahren die gewonnene Atemproben auf ihr Isotopeverhältnis hin zu untersuchen. Darunter zählen die Isotopenverhältnismassenspektroskopie (IRMS), die in diesem Probandenversuch verwendete Nichtdispersive Infrarotspektrometrie sowie die optogalvanische Spektrometrie (LARA<sup>®</sup> = Laser assisted ratio analyzer) (35).

Für die Beurteilung der Leberfunktion mögliche Tracersubstanzen, deren Metabolisierungsenzyme und Lokalisation sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

<sup>13</sup> C-Tracer/Substrat	Enzym	Lokalisation
Aminopyrin	P450s (CYP1A2, 2C9)	Mikrosomen
Phenacetin	CYP1A2 (CYP2E1)	Mikrosomen
Methacetin	CYP1A2	Mikrosomen
Coffein	CYP1A2 (CYP2E1, 2B6)	Mikrosomen
Diazepam	CYP2C19 (CYP3A4)	Mikrosomen
Erythromycin	CYP3A4	Mikrosomen
Galactose	Galactokinase	Zytosol
Phenylalanin	Phenylalanine hydroxylase	Zytosol
Methionin	Citratzyklus	Mitochondrien
Ketoisocaprionsäure	Verzweigtkettiger Alpha-Ketoisocaprionsäure-Dehydrogenase-Komplex	Mitochondrien
Oktanoat	β-Oxidation	Mitochondrien
Ethanol	Alkoholdehydrogenase Aldehyddehydrogenase	Zytosol, Mitochondrien

**Tabelle 2:** Darstellung von möglichen <sup>13</sup>C-Tracersubstanzen, deren Metabolisierungsenzyme und Lokalisation in der Leber (38)

### 1.6.1 2-Keto[1-<sup>13</sup>C]isocaprionsäure- Atemgastests

Der <sup>13</sup>KIC-Atemgastest zählt neben dem <sup>13</sup>C-Methionin- und dem <sup>13</sup>C-Oktansäure-Test zu den Atemgastests welche die mitochondriale Leberfunktion nicht-invasiv darstellen können (39).

### 1.6.2 [N-1,3,7-Trimethyl-<sup>13</sup>C]coffein- Atemgastests

Der <sup>13</sup>Cof-Atemgastest kann zur Untersuchung der mikrosomalen metabolischen Leberfunktion verwendet werden. Weitere Vertreter zur Messung der mikrosomalen hepatischen Leistung sind Aminopyrin, Phenacetin, Methacetin, Erythromycin und Diazepam (39).

## 1.7 Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es eine Aussage über eine Veränderung der Entgiftungsfunktion der Leber unter Einfluss von moderatem Alkoholkonsums (0,36 g/kg KG pro d entspricht 0,46 ml/kg KG pro d) zu treffen. Unter Verwendung von nicht invasiven  $^{13}\text{C}$ -Atemgastests sollten die Unterschiede zwischen dem Abbau zweier Tracersubstanzen in Bezug auf einen 5- oder 10-tägigen Rotweinkonsums von gesunden Probanden aufgezeigt werden. Die Untersuchungen wurden mit einem 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure- und mit einem [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Atemgastest durchgeführt, um die mitochondriale ( $^{13}\text{KIC}$ ) bzw. die mikrosomale ( $^{13}\text{Cof}$ ) Leberfunktion zu bestimmen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Probanden

In dieser Studie untersuchten wir 18 Probanden, davon stellten sich 11 weibliche und 7 männliche Teilnehmer zur Verfügung. Das Durchschnittsalter betrug ca. 24 Jahre bei einer Altersspanne zwischen 20 und 31 Jahren.

Zusätzlich wurden die Körperoberfläche (KOF) [1] und der Body-Mass-Index (BMI) [2] bestimmt. Dieser lag bei unseren Probanden durchschnittlich bei 22,07 kg/m<sup>2</sup>. Das Körpergewicht wurde immer auf derselben Waage (Beurer GmbH, Ulm) gemessen. Folgende Formeln wurden zur Berechnung genutzt:

$$KOF = \sqrt{\frac{\text{Größe [cm]} \times \text{Gewicht [kg]}}{3600}} \text{ nach Mosteller} \quad [1]$$

$$KOF = 0,007184 \times \text{Größe [cm]}^{0,725} \times \text{Gewicht [kg]}^{0,425} \text{ nach Du Bois} \quad [1]$$

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{(\text{Körperlänge [m]})^2} \quad [2]$$

Das positive Votum der Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock erfolgte unter der Reg.-Nr.: II HV 10/2002.

### 2.1.1 Tabellarische Darstellung der probandenspezifischen Angaben

ID	Geschlecht	Alter [Jahre]	Gewicht [kg]	Größe [m]	KO [m <sup>2</sup> ]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]
HM	W	23	54,9	1,61	1,57	21,18
KS	W	22	62,1	1,59	1,67	24,56
MM	M	31	84,0	1,93	2,12	22,55
NT	M	29	74,1	1,81	1,93	22,62
NA	W	26	69,0	1,73	1,73	23,05
RJ	W	22	61,2	1,68	1,69	21,68
RP	W	20	75,9	1,82	1,96	22,91
SP	M	24	85,0	1,80	2,07	26,23
SK	W	26	56,0	1,75	1,64	18,29
SM	M	24	72,7	1,81	1,91	22,19
EM	W	22	52,3	1,60	1,52	20,43
WJ	W	21	55,4	1,76	1,63	17,88
KA	W	22	58,5	1,60	1,61	22,85
MF	W	21	56,0	1,74	1,65	18,50
MS	W	23	59,5	1,72	1,69	20,11
SH	M	25	86,3	1,88	2,12	24,42
VK	M	25	81,2	1,86	2,05	23,47
WS	M	24	92,6	1,95	2,24	24,35
<b>Mittelwerte</b>		<b>23,89</b>	<b>68,71</b>	<b>1,76</b>	<b>1,82</b>	<b>22,07</b>

*Tabelle 3: Darstellung der erhobenen Probandendaten*

## 2.2 Ausschlusskriterien

Unter den Ausschlusskriterien zählten wir eine Dauersubstitution von Medikamenten, darunter auch orale Kontrazeptiva. Die Probanden durften an keinen Vorerkrankungen wie Leberschäden, Störungen des Gastrointestinaltrakts oder andere Stoffwechselerkrankungen leiden. Des Weiteren wurden auch Personen mit Operationen an Gallenblase, Leber, Atmungsorganen und des Gastrointestinaltrakts ausgeschlossen. Probanden mit einem Alkoholabusus durften ebenfalls nicht an der Studie teilnehmen. Eine Nikotinkarenz sollte zehn Tage davor und während des Versuchs eingehalten werden.

Zudem wurden die Patienten angehalten keine Nahrungsmittel mit einem natürlich erhöhten Anteil an <sup>13</sup>C, welcher insbesondere in C<sub>4</sub>-Pflanzen vorkommt, zu sich zu nehmen. Darunter zählten zum Beispiel Rohrzucker, Hirse und Mais (40).

## 2.3 Material

Zur Durchführung des Tests wurde Apfelsaft aus Direktsaft (Solevita, Niederrhein-Gold Tersteegen GmbH, Moers) und als Ethanolquelle Rotwein der Rebsorte Merlot (Bree, Peter Mertes KG, Bernkastel-Kues) mit einem Alkoholanteil von 12,5 Vol.-% verwendet. Das oral eingenommene Apfelsaft- bzw. Rotweinvolumen wurde auf 3,6 ml/kg/KG festgelegt. Unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichts von Alkohol mit  $0,8 \text{ g/cm}^3$  konnte der Alkoholgehalt berechnet werden.

$$\text{Alkoholgehalt [g]} = \text{Rotweinvolumen [ml]} \times \frac{\text{Alkoholgehalt [Vol\%]}}{100} \times 0,8 \text{ g/cm}^3$$

$$0,36 \text{ g} = 3,6 \text{ ml} \times \frac{12,5 \text{ Vol\%}}{100} \times 0,8 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

Jeder Proband trank somit täglich in der Alkoholphase 3,6 ml/kg/KG Rotwein bei einem Alkoholgehalt von 0,36 g/kg KG (41). Dies entsprach einer täglichen durchschnittlichen Alkoholmenge von  $21,63 \text{ g} \pm 2,38$  für Frauen und  $29,62 \text{ g} \pm 2,33$  für Männer.

Als Tracer wurden für den Atemgastest 2-Keto [ $1\text{-}^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure und [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein verwendet.

### 2.3.1 Tracer

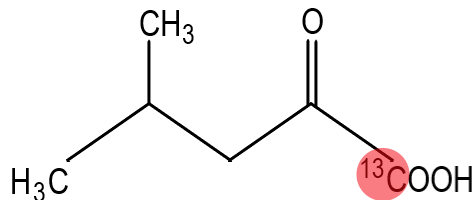
#### 2.3.1.1 2-Keto[ $1\text{-}^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure ( $^{13}\text{KIC}$ )

Molekulargewicht:  $131,13 \text{ g/mol}$ , 99 Atom %  $^{13}\text{C}$  (Campro Scientific, Berlin)

Dosis:  $2 \text{ mg/kg KG}$

Ketoisocapronsäure ist eine verzweigt-kettige 2-Oxosäure und ein Intermediat der Aminosäure Leucin. Die Verteilung erfolgt in allen Körperflüssigkeiten und die Ausscheidung findet renal statt. Der Tracer ist ein Transaminierungsprodukt der Aminosäure Leucin (42). Die Metabolisierung der 2-Ketoisocapronsäure verläuft über einen mitochondrial lokalisierten Dehydrogenasekomplex (35). 2-Ketoisocapronsäure wird durch den Enzymkomplex Verzweigt-kettige-2-Oxosäuren-Dehydrogenase (BCKDH) zu Isobutyryl-Coenzym A abgebaut. Die BCKDH besteht aus Decarboxylase (E1) mit Coenzym Thiaminpyrophosphat, Dihydrolipoyl-Acyltransferase (E2) sowie

Dihydrolipoamid-Dehydrogenase (E3). Bei einem Defekt dieses Enzymkomplexes kommt es zur Anreicherung von 2-Hydroxy- und 2-Oxosäuren in Urin, Plasma und in der Liquorflüssigkeit. Aufgrund der hohen Neurotoxizität von 2-Ketoisocapronsäure resultiert der Symptomkomplex der Ahornsirupkrankheit (MSUD) (42).



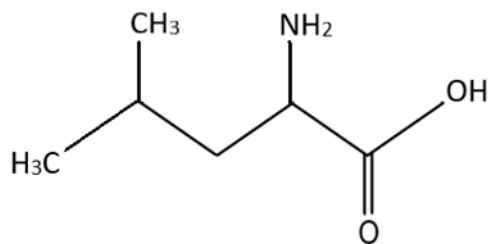
**Abbildung 2:** Strukturformel von <sup>13</sup>C-Ketoisocapronsäure

### 2.3.1.2 L-Leucin

Molekulargewicht: 131.17 g/mol

Dosis: 20 mg/kg KG

L-Leucin ist eine essentielle verzweigt-kettige Aminosäure, welche ausschließlich über die Nahrung aufgenommen werden kann. Die Aminosäure wird zu unserer Tracersubstanz 2-Ketoisocapronsäure und weiter in Acetyl-CoA und Acetoacetat umgewandelt. Die Metabolisierung erfolgt insbesondere in der Leber sowie in Gehirn, Niere und Muskel (42). Es erfolgte bei dem vorliegenden Probandenversuch die orale Gabe von unmarkiertem L-Leucin (20 mg/kg/KG, Merck, Darmstadt) um die Transaminierung von L-Leucin zu hemmen. Dies führt kompetitiv zu einer Erhöhung der Decarboxylierung von <sup>13</sup>KIC (43).



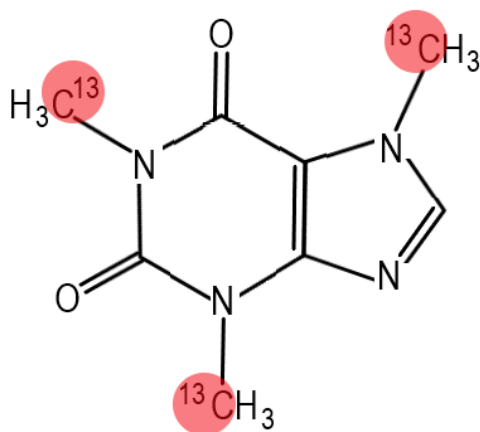
**Abbildung 3:** Strukturformel von L-Leucin

### 2.3.1.3 [N-1,3,7-Trimethyl-<sup>13</sup>C]coffein (<sup>13</sup>Cof)

Molekulargewicht: 197,16 g/mol, 99 Atom % <sup>13</sup>C (Campro Scientific, Berlin)

Dosis: 1 mg/kg KG

Coffein wird schnell absorbiert und seine orale Bioverfügbarkeit beträgt nahezu 100%. Das aufgenommene Coffein wird innerhalb von 45 min im Verdauungstrakt resorbiert. Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich renal, 1-2% werden unverändert ausgeschieden, 98% metabolisiert. Nach ca. 30 min ist die maximale Plasmakonzentration erreicht. Die Halbwertszeit beträgt bei Erwachsenen 2-10 Stunden im Plasma (42). Coffein wird zu den Methylxanthinen gezählt, da es ein methyliertes Harnsäurederivat (Xanthin) ist. Es gehört zur Gruppe der Analeptika. Coffein besitzt drei Methylgruppen (1,3,7-Trimethylxanthin) und wird in der Leber zu Dimethyl- und Monomethylxanthinen oxidiert. Die aktiven Substanzen sind Paraxanthin, Theophyllin (Arzneimittel) und Theobromin (Bestandteil der Kakaobohne). Die Metabolisierung erfolgt dabei über das Cytochrom-P450-System mit dem Schlüsselenzym CYP1A2 (44,45). Um eine Beeinträchtigung dieses Enzyms zu verhindern, untersagten wir den Probanden das Rauchen bis 10 Tage vor und während des Versuches und wählten nur weibliche Personen aus, welche kein Kontrazeptivum einnahmen (46).



**Abbildung 4:** Strukturformel von [N-1,3,7-Trimethyl-<sup>13</sup>C]coffein (<sup>13</sup>Cof)

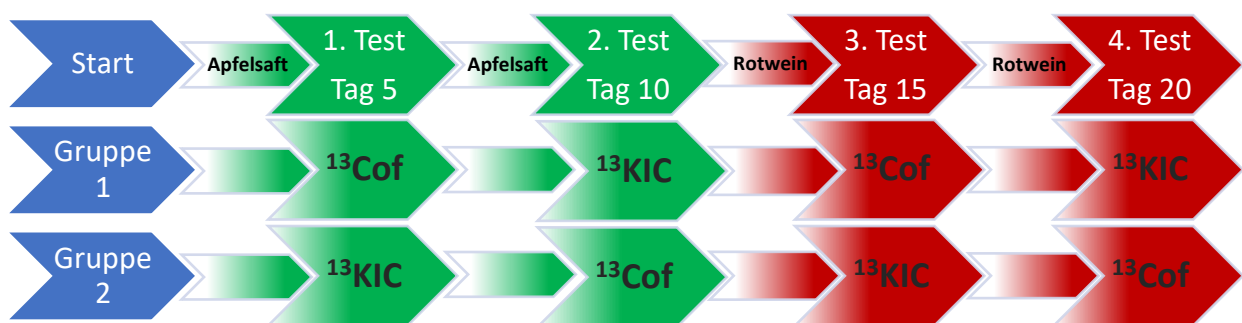
## 2.4 Versuchsdurchführung

### 2.4.1 Dauer

Der Versuch belief sich auf eine Dauer von 20 Tagen. Die ersten 10 Tage wurde eine Alkoholabstinenz eingehalten und täglich eine äquivalente Menge Apfelsaft getrunken, um die Ausgangswerte erheben zu können. In den darauffolgenden 10 Tagen konsumierten die Probanden Alkohol. In den gesamten 20 Tagen sollten Stress, Bewegung und Ernährung konstant gehalten werden. Alle 5 Tage wurde ein Testtag angesetzt, an dem entweder  $^{13}\text{Cof}$  oder  $^{13}\text{KIC}$  als Tracer eingenommen wurden. Danach erfolgte ein standardisiertes Abendbrot. Über eine Zeitspanne von 6 Stunden wurde Atemgas gesammelt, in den ersten 2 Stunden alle 15 Minuten und nachfolgend halbstündlich.

### 2.4.2 Schema der Tracereinnahme

Wir entschieden uns für ein alternierendes Muster der Tracereinnahme für die Probanden. 8 Probanden begannen die Untersuchungsreihe mit 2-Keto [ $1\text{-}^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure, 10 weitere starteten den Test mit [ $\text{N-1,3,7-Trimethyl-}^{13}\text{C}$ ]coffein.



**Abbildung 5:** Schema des Versuchsaufbaus mit alternierendem Muster der Tracereinnahme

### **2.4.3 Zusammensetzung des Abendessens**

Zwischen 17:00 und 17:30 Uhr wurde ein standardisiertes Abendessen eingenommen. Dieses bestand aus drei Weißbrotschnitten jeweils mit Butter bestrichen und je einer Scheibe Kochschinken (Dulano, The Family Butchers Germany GmbH, Versmold) sowie einer Scheibe Gouda (Milbona, JERMI Käsewerk GmbH, Laupheim) belegt. Dazu aßen die Probanden einen halben Apfel oder eine halbe Birne. Andere Nahrung durfte nicht aufgenommen werden. Der Tracer sollte auf eine Weißbrothälfte gestreut werden. Die Auflösung des Tracers im Getränk war nicht gestattet. Zusätzlich wurde je nach Testtag Apfelsaft (5. und 10. Tag) oder Wein (15. und 20. Tag) konsumiert. Zudem konnten die Probanden bis zu 500 ml stilles Wasser während der Testphase trinken.

### **2.4.4 Ablauf des Testtages**

Der Testtag begann bei allen Probanden um 14:00 Uhr. Ab diesem Zeitpunkt durfte bis zum standardisierten Abendbrot um 17:00 Uhr keine Nahrung mehr aufgenommen werden. Dies hielt die Auswirkungen auf die oroökale Transitzeit gering (47,48). Um 16:45 wurde der Leerwert mittels Beatmens des 1. Atemgasbeutels für die  $^{13}\text{CO}_2$ -Baseline der Atemgastestreihe bestimmt. Die Tracereinnahme erfolgte um 17:00 Uhr, nachfolgend durfte das standardisierte Abendbrot und der gewichtsadaptierte Apfelsaft bzw. Wein verzehrt werden. Die Atemgase wurden bis 19:00 Uhr alle 15 Minuten gesammelt, anschließend alle 30 Minuten. Um 23:00 Uhr war der Testtag beendet.

### **2.3.1 Probenasservierung**

Zur Gewinnung der Proben wurden pro Testtag 17 Atemgasbeutel der Firma Fischer Analysen Instrumente GmbH, Leipzig verwendet. Das Atemgas wurde in den Beuteln aufgefangen, um mittels Infrarotspektroskopie die  $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration der Ausatemluft zu bestimmen. Die Probanden beatmeten die Testbeutel über ein Hilfsröhrchen endexpiratorisch, danach wurden diese sofort luftdicht mit einem Stöpsel verschlossen. Zur Bestimmung der expiratorischen, endogenen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation für jede einzelne Versuchsperson wurde mit dem 1. Testbeutel eine

Nullprobe gewonnen. Aufgrund des angestrebten nicht invasiven Charakters der Studie wurde auf Blutuntersuchungen verzichtet.

## 2.5 Messmethode

Zur Messung der  $^{12}\text{CO}_2/^{13}\text{CO}_2$ -Isotopenverhältnisse wurde ein Infrarotspektroskopie-Analysator (FANci2, Firma Fischer Analysen Instrumente GmbH, Leipzig) verwendet, dieses befindet sich im Forschungslabor der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin Rostock.

Das Verfahren beruht auf einer Nicht dispersiven Infrarotspektroskopie (NDIR), dabei wird Infrarotstrahlung im mittleren infraroten Spektralbereich (2-8  $\mu\text{m}$  Wellenlänge) spezifisch absorbiert. Die unterschiedlichen Absorptionsspektren von  $^{12}\text{CO}_2$  und  $^{13}\text{CO}_2$  ermöglichen somit über das NDIR-Prinzip eine quantitative Intensitätsmessung der Atemgase.

Infrarotempfänger besitzen eine hohe Selektivität, welche durch die Sättigung mit der entsprechenden Messkomponente von  $^{12}\text{CO}_2$  oder  $^{13}\text{CO}_2$  erreicht wird. Im  $^{13}\text{CO}_2$ -Kanal wird ein  $^{12}\text{CO}_2$ -Filter verwendet, dadurch kann die Querempfindlichkeit des  $^{13}\text{CO}_2$  gegenüber dem  $^{12}\text{CO}_2$  verringert und mittels mathematischer Berechnungen kompensiert werden. Zur Gewährleistung der hohen Genauigkeitsanforderungen von Atemgastests wird eine Thermostatisierung des optischen Systems durchgeführt. Dies wird zudem gasdicht abgeschlossen, um schwankenden  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen in der Umluft entgegenzuwirken (49).

## 2.6 Berechnungen

Die mittels Infrarotspektroskopie-Analysators ermittelten  $^{13}\text{C}$ -Atemgas-Konzentrationen dienen als Grundlage für die Berechnungen. Nach den Gleichungen von Radke et al. und Brösicke et al. (50,51) wurden die „Delta-over-Baseline“-Werte und die der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen berechnet.

### 2.6.1 Delta over Baseline (DOB)

Als Baseline wurde die  $^{13}\text{C}$ -Konzentration der Leerwert-Probe festgelegt. Aus der Differenz einer zum Zeitpunkt ( $t_i$ ) gemessenen  $^{13}\text{C}$ -Konzentration ( $\delta^{13}\text{C}_{ti}$ ) und der Baseline ( $\delta^{13}\text{C}_{t0}$ ) konnte der „DOB“-Wert ermittelt werden (52).

$$\Delta\delta^{13}\text{C}_{ti} = \delta^{13}\text{C}_{ti} - \delta^{13}\text{C}_{t0}$$

### 2.6.2 Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation

Auf Grundlage der DOB-Werte wird der zeitbasierte  $\Delta\delta$ -kumulativ-Wert ( $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ ) berechnet. Dieser geht mit der  $^{13}\text{C}$ -Dosis in die Berechnung der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ein.

#### 2.6.2.1 Berechnung der Dosis

$$\text{Dosis } (D) = \frac{m \times A \times n}{100 \times \text{MG}} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg g/mol}} \right] = \left[ \frac{\text{mol}}{\text{kg}} \right]$$

- m = Masse des eingesetzten Tracers
- A =  $^{13}\text{C}$ -Markierung des Tracers in Atom%
- MG = Molekulargewicht des markierten Tracers
- n = Anzahl der  $^{13}\text{C}$ -markierten C-Atome

#### 2.6.2.2 Berechnung des $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -wertes

Zur Ermittlung des  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -wertes werden  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_{i-1}}$  und der  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_i}$  kumulativ addiert (53).

$$\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}} = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} (\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_{i-1}} + \Delta\delta^{13}\text{C}_{t_i}) \times (t_i - t_{i-1})$$

### 2.6.2.3 Berechnung der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation

Mit der folgenden Formel (52) wird die kumulative prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation (kpEx) berechnet:

$$kpEx = \frac{PDB \times KO \times endoCO_2 \times \Delta\delta_{kum}}{D \times 10} \left[ \frac{m^2 \text{ mol } [m^2 h]^{-1}}{g \text{ mol } g^{-1}} \right] h$$

kpEx = kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation [%]

PDB = Isotopenverhältnis von  $^{13}\text{CO}_2$  Standardgas  
(Pee Dee Belemnite,  $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ) = 0,0112372

KO = Körperoberfläche ( $\text{m}^2$ )

endo $\text{CO}_2$  = endogene  $\text{CO}_2$ -Produktion  $0,3 \text{ mol} \times [\text{m}^2 \times \text{h}]^{-1}$

D = Dosis des eingesetzten Tracers [g/mol]

### 2.6.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung sowie die grafische Darstellung wurden unter anderem mit Microsoft Office Excel 2016 (Home and Student) durchgeführt. Zur Bestimmung der Signifikanzen wurde der Wilcoxon Test für gepaarte Stichproben und der U-Test nach Mann & Whitney für zwei unabhängige Stichproben mittels des Programmes IBM SPSS Statistics 27 (SPSS incorporated headquarters, Chicago, USA) herangezogen. Als statistisch signifikant wurde in allen Fällen  $p < 0,05$  angenommen. Aufgrund der Machbarkeit der vorliegenden Studie (komplexer Studienablauf und hohe Anforderungen an die Compliance begrenzten die Teilnehmeranzahl) wurde auf eine Poweranalyse verzichtet.

### 3 Darstellung der Ergebnisse

#### 3.1 Die $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprönsäure-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum

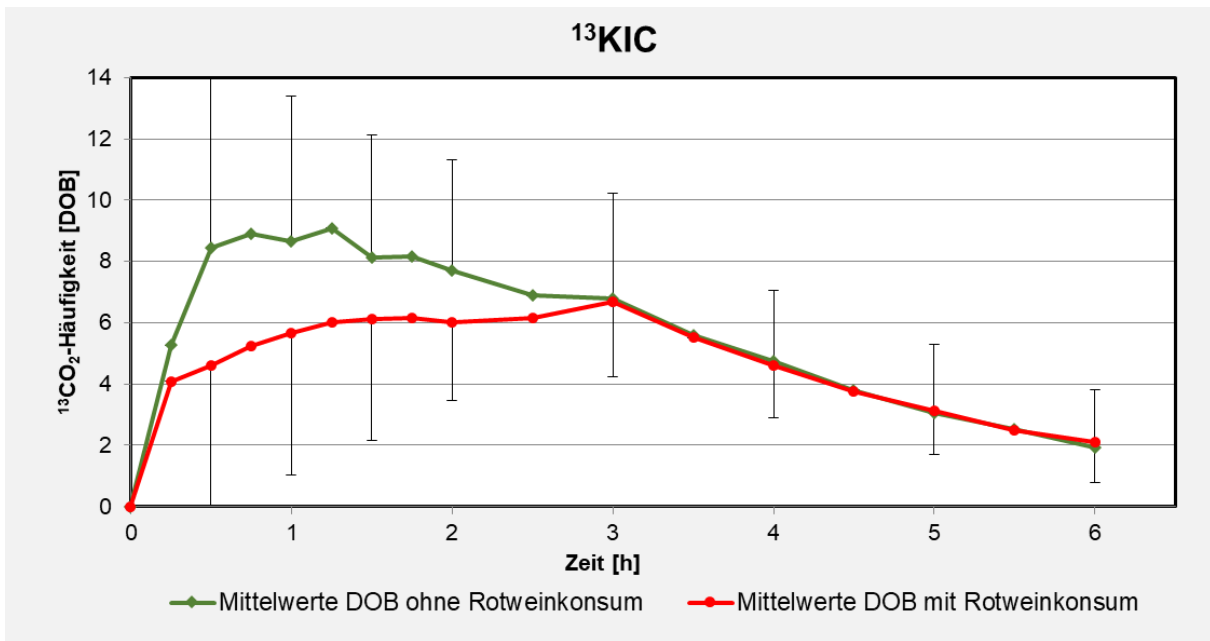


Abbildung 6:  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Kurve nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol

#### 3.2 Die $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein ohne und mit Rotweinkonsum

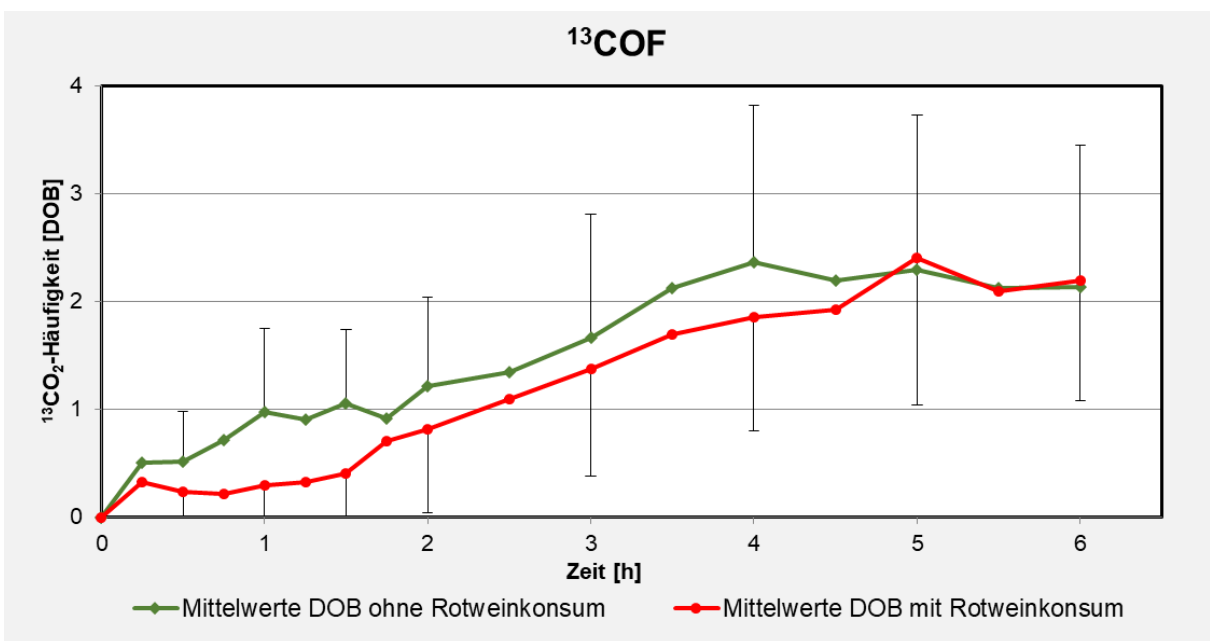


Abbildung 7:  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Kurve nach Gabe von  $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol

In den Abbildungen 6 und 7 sind Mittelwerte der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten der exhaliierten Atemluft nach der jeweiligen Tracereinnahme mit und ohne Rotweinkonsum über 6 Stunden dargestellt.

Die Graphen in Abbildung 6 zeigen nach  $^{13}\text{KIC}$ -Gabe einen Anstieg kurz nach Einnahme des Tracers. Der Peak der Kurven unterscheidet sich, ohne Rotweinkonsum wird dieser mit  $9,08 \pm 4,84$  DOB bereits nach 1,25 Stunden erreicht, mit Rotweinkonsum bei 3 Stunden in geringerer Häufigkeit ( $6,67 \pm 2,45$  DOB). Zudem nähern sich die Kurvenverläufe nach 3 Stunden bis zur 6. Stunde nahezu deckungsgleich an. In den Berechnungen der DOB-Werte konnten sieben Signifikanzen aufgezeigt werden. Diese begannen ab der 30. Minute bis zur 120. Minute (0,5 h  $p = 0,020$ ; 0,75 h  $p = 0,022$ ; 1 h  $p = 0,022$ ; 1,25 h  $p = 0,022$ ; 1,5 h  $p = 0,043$ , 1,75 h  $p = 0,0039$ , 2 h  $p = 0,044$ ). Nach zwei Stunden zeigten sich keine Signifikanzen mehr.

Betrachtet man stattdessen die Graphen unter  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein als Tracersubstanz (Abb. 7), zeigt sich ein etwas langsamerer Anstieg beider Kurven. Die Spitzenwerte ähneln sich ( $2,36 \pm 1,46$  vs.  $2,4 \pm 1,36$  DOB) jedoch wird der Maximalwert unter Alkoholeinfluss später erreicht (4 h vs. 5h). Im Kurvenverlauf konnten vier Signifikanzen aufgezeigt werden. Die deutlichen Differenzen stellten sich ab der 45. Minute bis zur 90. Minute dar. (0,75 h  $p = 0,011$ ; 1 h  $p = 0,009$ ; 1,25 h  $p = 0,018$ ; 1,5 h  $p = 0,002$ ). Danach zeigten sich keine Signifikanzen mehr.

### 3.3 Mittelwerte der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum

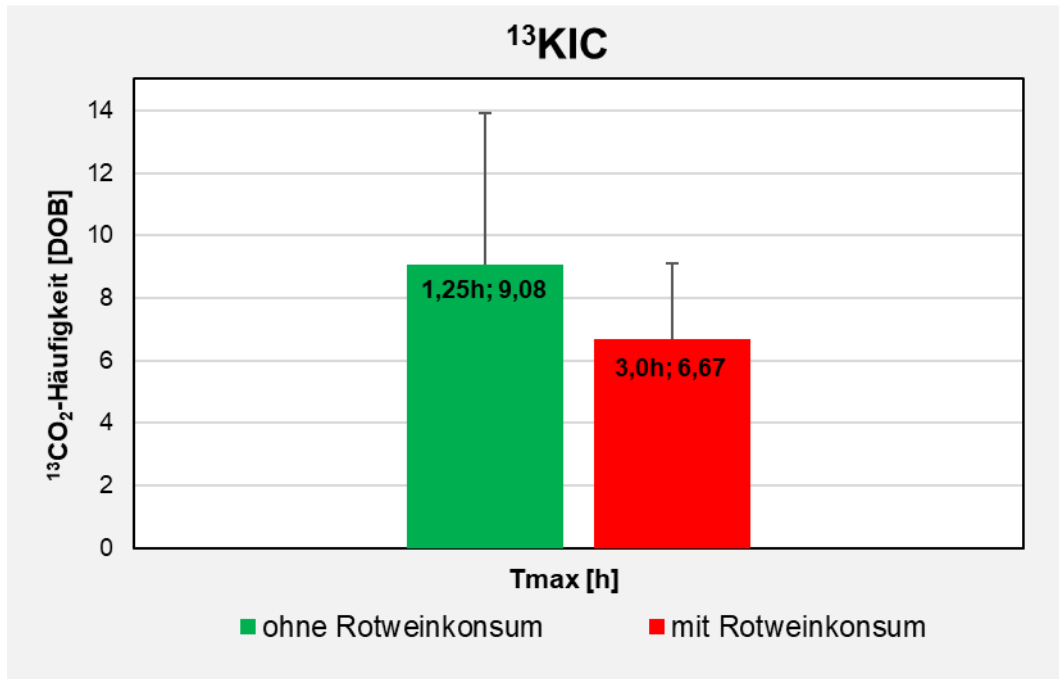


Abbildung 8:  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol

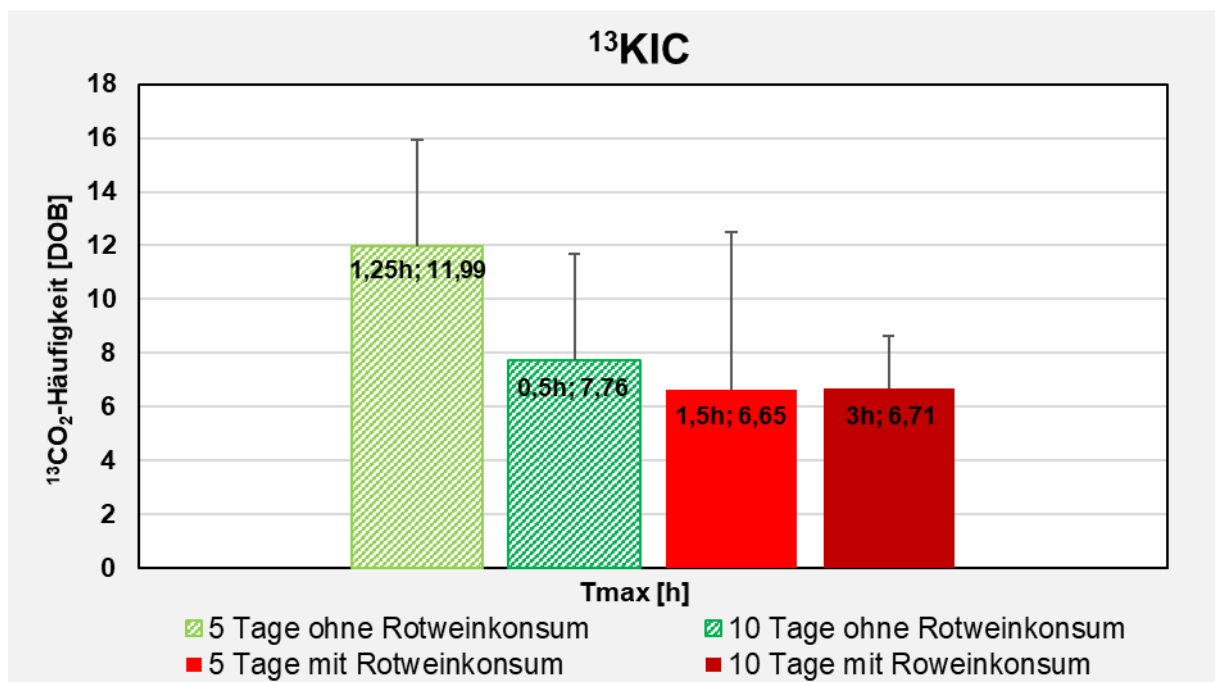


Abbildung 9:  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol aufgeteilt nach 5 und 10 Tagen

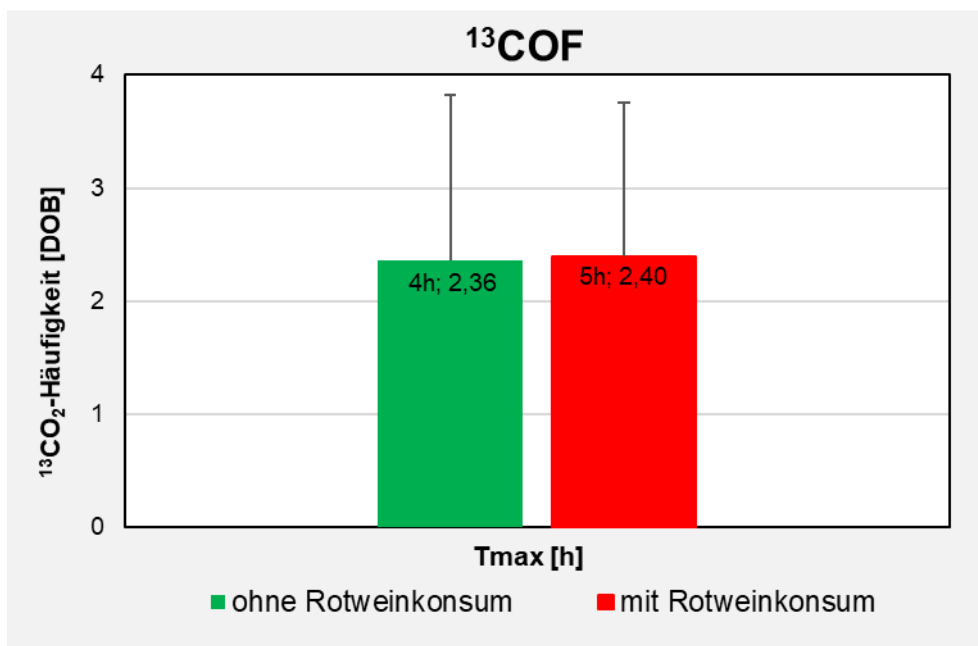
Die Abbildung 8 zeigt die unterschiedlichen Spitzenwerte für  $^{13}\text{KIC}$  insgesamt ohne und mit Alkoholkonsum. Die Differenz zwischen den beiden Werten beträgt 2,41 DOB ( $9,08 \pm 4,84$  vs.  $6,67 \pm 2,45$  DOB) und ist mit  $p = 0,139$  statistisch nicht signifikant.

Die detaillierteren Verhältnisse sind in Abbildung 9 dargestellt. Im Vergleich zu je 5 Tagen ohne und mit Rotwein lässt sich ein Unterschied von 5,34 DOB erkennen ( $11,99 \pm 3,94$  vs.  $6,65 \pm 3,93$  DOB), welcher mit  $p = 0,035$  statistisch signifikant ist.

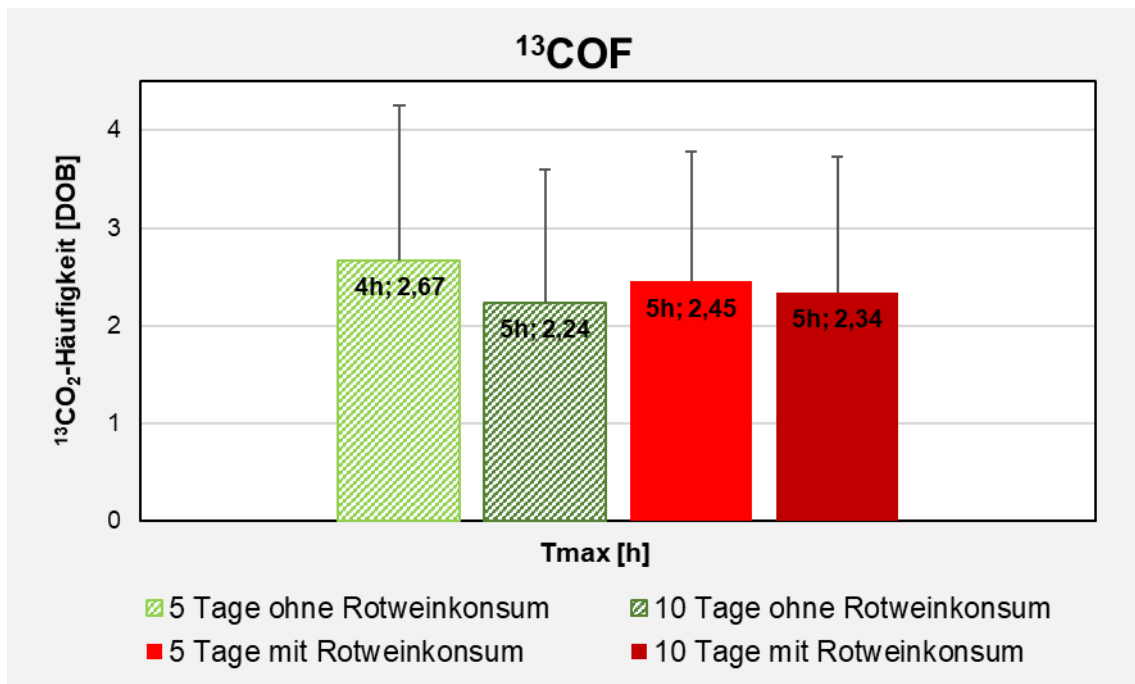
Vergleicht man den 10-tägigen Rotweinkonsum mit der nichtalkoholischen Referenz ergibt sich eine Differenz von 1,05 DOB ( $7,76 \pm 5,86$  vs.  $6,71 \pm 1,95$  DOB). Hieraus zeigt sich mit  $p = 0,541$  keine statistische Signifikanz.

Insgesamt ist eine Reduktion der Maxima unter Einfluss von Alkohol auffällig.

### 3.4 Mittelwerte der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum



**Abbildung 10:**  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von  $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol



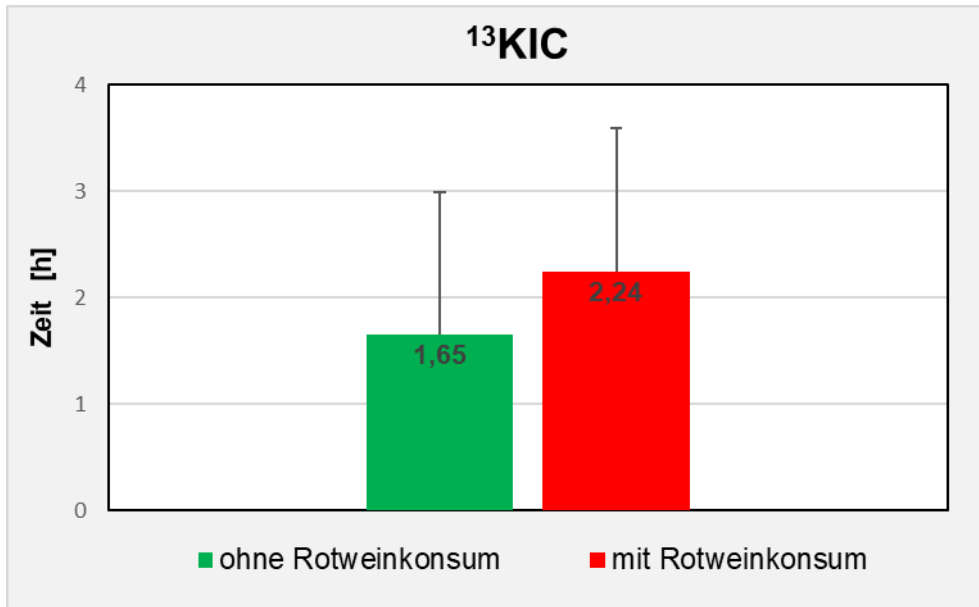
**Abbildung 11:** <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von <sup>13</sup>Cof-Tracer ohne und mit Alkohol aufgeteilt nach 5 und 10 Tagen

In Abbildung 10 werden die unterschiedlichen Spitzenwerte zusammenfassend für <sup>13</sup>Cof ohne und mit Rotweinkonsum dargestellt. Mit einer Differenz von 0,04 DOB ähneln sich die Spitzenwerte ( $2,36 \pm 1,46$  vs.  $2,4 \pm 1,36$  DOB) und sind mit  $p=0,931$  nicht signifikant. Trotz dessen unterscheiden sie sich in der Zeit bis zum Erreichen des Peaks.

In der jeweiligen Aufteilung (Abb. 11) zwischen 5 und 10 Tagen ohne und mit Alkohol zeigen sich ähnliche Werte. Betrachtet man den 5-tägigen Alkoholeinfluss ergibt sich ein Unterschied von 0,22 DOB ( $2,67 \pm 1,58$  vs.  $2,45 \pm 1,33$  DOB), welcher mit  $p=0,575$  nicht signifikant ist. Im Vergleich zu je 10 Tagen ohne und mit Rotwein lässt sich ein Unterschied von 0,1 DOB erkennen ( $2,24 \pm 1,36$  vs.  $2,34 \pm 1,39$  DOB), welcher mit  $p=0,779$  statistisch nicht signifikant ist.

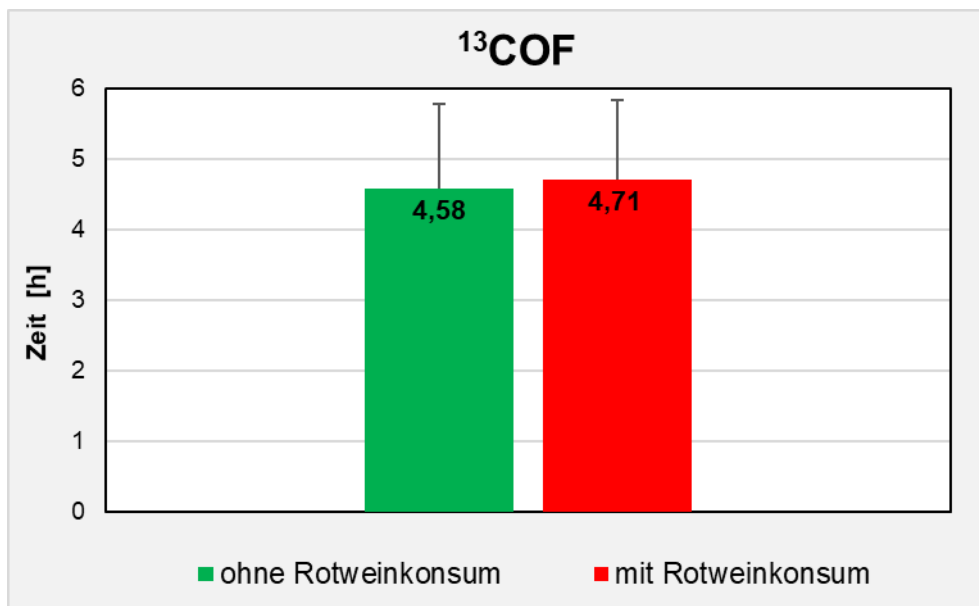
Auffällig ist eine leichte Reduktion der Maxima unter 5-tägigen Einfluss von Alkohol und eine Steigerung bei einem 10-tägigen sowie unter dem gemittelten gesamten Alkoholeinfluss.

### 3.5 Durchschnittliche Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks nach 2-Keto[1-<sup>13</sup>C]isocapronsäure



**Abbildung 12:** Darstellung der durchschnittlichen Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks, gemessen nach Gabe des <sup>13</sup>KIC-Tracers

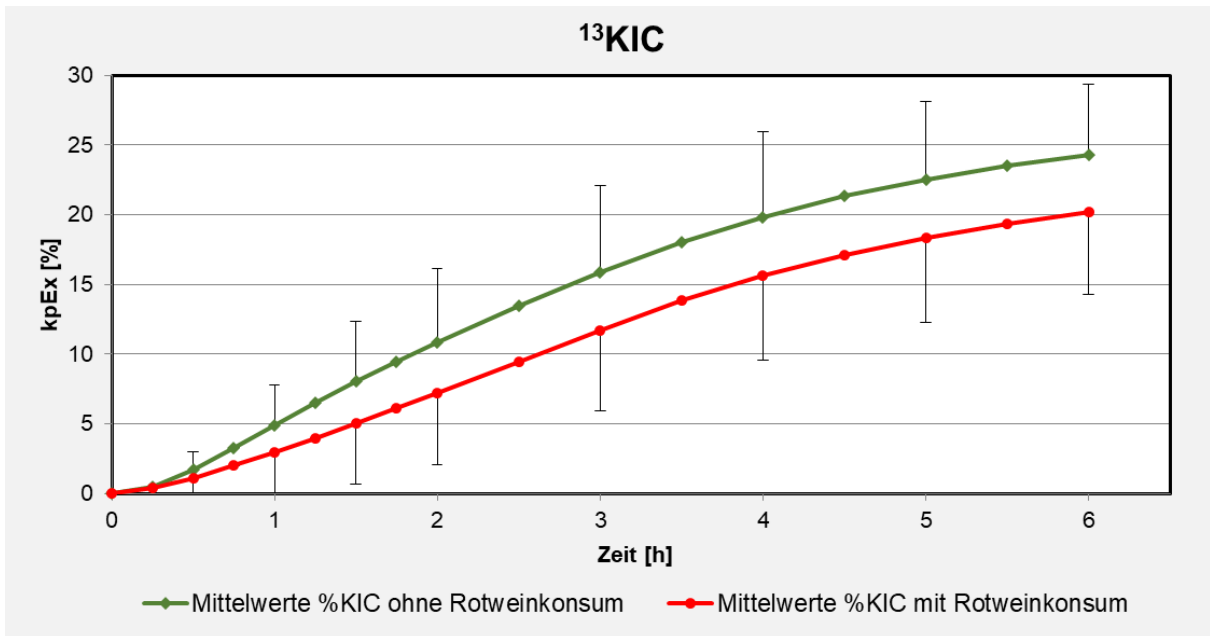
### 3.6 Durchschnittliche Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks nach [N-1,3,7-Trimethyl-<sup>13</sup>C]coffein



**Abbildung 13:** Darstellung der durchschnittlichen Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks, gemessen nach Gabe des <sup>13</sup>Cof-Tracers

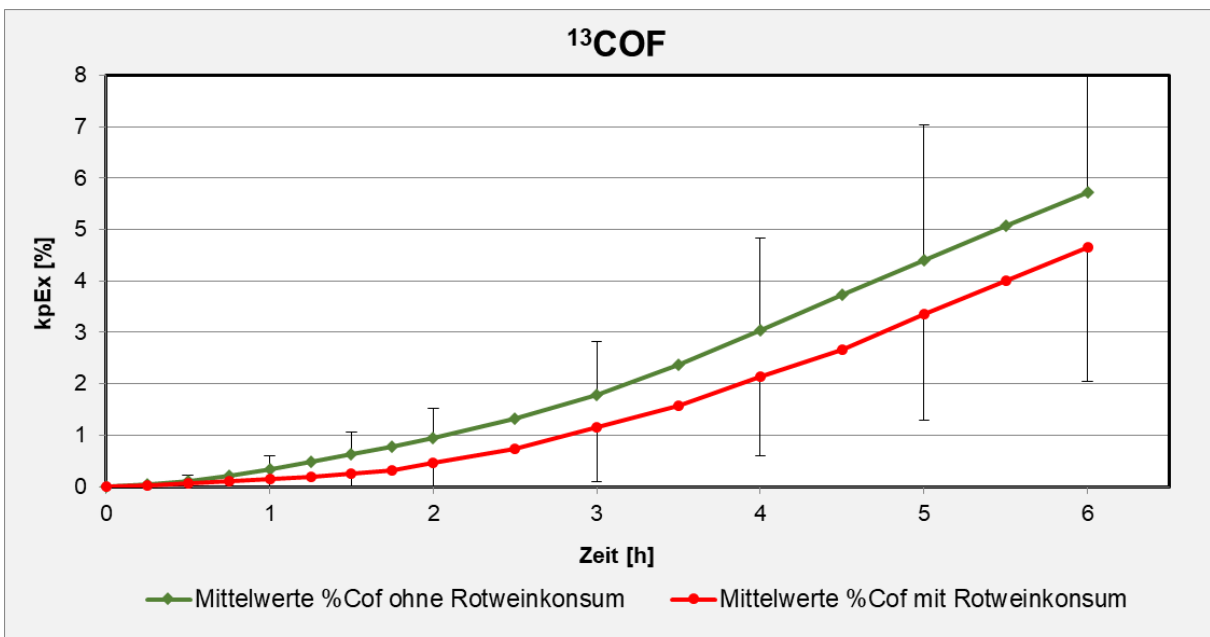
Die Abbildungen 12 und 13 sind jeweils die durchschnittlichen Werte der Zeitintervalle bis zum Erreichen des DOB-Spitzenwertes nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$  und  $^{13}\text{Cof}$  dargestellt. Unter  $^{13}\text{KIC}$  ergibt sich eine Differenz von 0,59 h ( $1,65 \pm 1,34$  vs  $2,24 \pm 1,36$  h) und ist mit  $p = 0,049$  statistisch signifikant. Der zeitliche Unterschied bei  $^{13}\text{Cof}$  ohne und mit Alkohol ist mit 0,13 h geringer und mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p = 0,715$  nicht signifikant.

### 3.7 Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum



**Abbildung 14:** Gemittelte Kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol (5 und 10 Tage zusammengefasst)

### 3.8 Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe ohne und mit Rotweinkonsum



**Abbildung 15:** Gemittelte Kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach Gabe von  $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol (5 und 10 Tage zusammengefasst)

In den Abbildungen 14 und 15 wird die kpEx nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$  (Abb. 14) und  $^{13}\text{Cof}$  (Abb. 15) ohne und mit Konsum von Rotwein dargestellt. Dabei sind die Daten jeweils nach 5 und 10 Tagen zusammengefasst.

Die Kurven in Abbildung 14 steigen zunächst steiler an und flachen dann bis zur 6. Stunde hin ab. Sie nähern sich asymptotisch einem Maximum. Der Graph der den Rotweinkonsum widerspiegelt liegt stets unter dem Graphen ohne Alkoholeinfluss. Betrachtet man die maximalen Endwerte zur 6. Stunde zeigt sich eine Differenz von 4,14 % ( $24,31 \pm 5,04$  vs.  $20,17 \pm 5,93$  %), dieser ist mit  $p = 0,025$  statistisch signifikant.

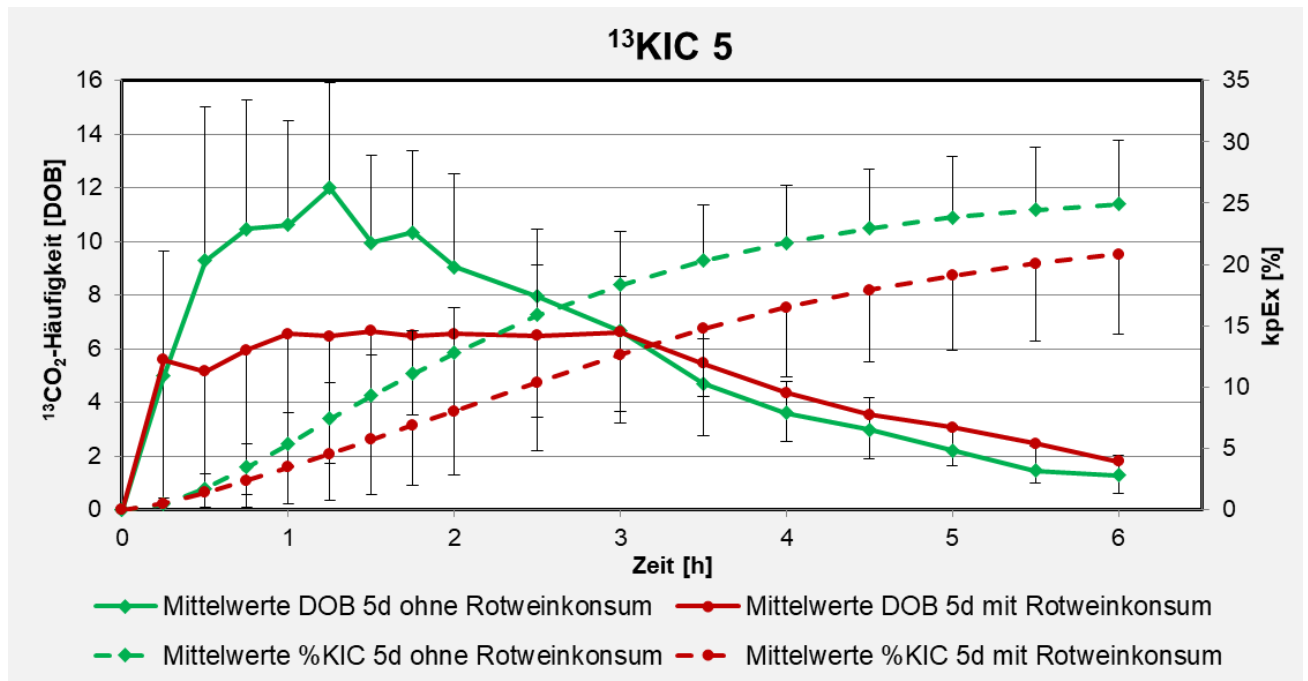
Ebenso konnte ab der 45. Minute bis zur Beendigung des Testes in jeder Messung signifikante Differenzen zwischen dem Apfel- und Rotweinkonsum dargestellt werden. (0,75 h  $p = 0,020$ ; 1 h  $p = 0,016$ ; 1,25 h  $p = 0,014$ ; 1,5 h  $p = 0,018$ ; 1,75 h  $p = 0,022$ ; 2 h  $p = 0,020$ ; 2,5 h  $p = 0,020$ ; 3 h  $p = 0,022$ ; 3,5 h  $p = 0,025$ ; 4 h  $p = 0,016$ ; 4,5 h  $p = 0,018$ ; 5 h  $p = 0,020$ ; 5,5 h  $p = 0,025$ ; 6 h  $p = 0,025$ )

Auch in Abbildung 15 ist erkennbar, dass der Graph mit Rotweinkonsum unter dem des Graphen ohne Alkoholeinfluss entlangläuft. Beide Kurven steigen fast linear an und unterscheiden sich in ihren maximalen Endwerten mit 0,98 % ( $5,62 \pm 3,44$  vs.  $4,64 \pm 2,62$  %). Eine statistische Signifikanz ergibt sich mit  $p = 0,248$  jedoch nicht.

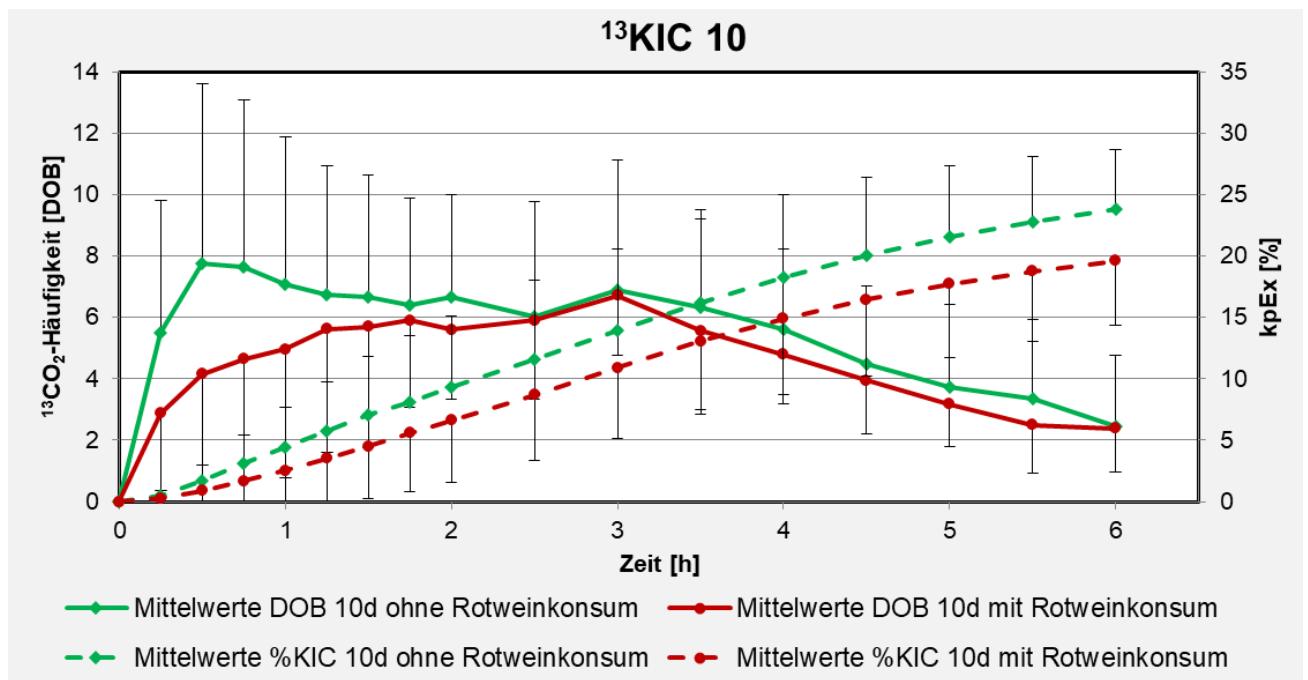
Zu den einzelnen Messzeiten der kpEx des  $^{13}\text{Cof}$ -Tracers konnten ab der 45. Minute bis zur 3. Stunde des Testes signifikante Unterschiede zwischen Apfel- und Rotweinkonsum berechnet werden. (0,75 h  $p = 0,025$ ; 1 h  $p = 0,022$ ; 1,25 h  $p = 0,017$ ; 1,5 h  $p = 0,015$ ; 1,75 h  $p = 0,014$ ; 2 h  $p = 0,018$ ; 2,5 h  $p = 0,022$ ; 3 h  $p = 0,035$ ). Zum Messzeitpunkt  $t = 3,5$  h zeigte sich keine Signifikanz ( $p = 0,071$ ), jedoch wieder ab  $t = 4$  h und  $t = 4,5$  h mit jeweils  $p = 0,048$ .

Die einzelnen Signifikanzwerte für die kpEx ohne und mit Rotweinkonsum sind je für  $^{13}\text{KIC}$  und  $^{13}\text{Cof}$  in Tabelle 4 und 5 dargestellt.

### 3.9 Die $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure-Gabe in Abhängigkeit der Einnahmetage ohne und mit Alkoholeinfluss.



**Abbildung 16:**  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure-Gabe 5 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss



**Abbildung 17:**  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure-Gabe 10 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss

In den Abbildungen 16 und 17 sind die  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten sowie die kpEx unter  $^{13}\text{KIC}$  in Abhängigkeit der jeweiligen Gruppen und ihrer Einnahmetage (5 vs. 10 d) aufgetragen.

Die Abbildung 16 beschreibt die  $^{13}\text{KIC}$ -Tracer-Einnahme nach 5 Tagen mit und ohne Alkohol. Vergleicht man die  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit steigen die Graphen zunächst bis zur 15. Minute steil an, die Kurve ohne Rotweineinfluss steigt weiter stark bis  $t = 1,25$  h an und nimmt dann gleichmäßig ab. Der Graph unter Alkoholkonsum hingegen flacht ab und steigt nur gering weiter bis Stunde 1,5, hält sich dann auf dem Niveau und fällt nach 3 Stunden wieder etwas steiler ab. Im Kurvenverlauf besteht ein signifikanter Unterschied nach 75 min mit  $p = 0,05$  sowie nach 105 min mit  $p = 0,036$ .

Bei der kpEx steigen beide Kurven bogenförmig an und flachen dann zur 6. Stunde ab. Der Graph mit Rotweineinfluss liegt unter dem Graphen ohne Alkohol. Vergleicht man die maximalen Endwerte ergibt sich eine Differenz von 4,1 % ( $24,95 \pm 5,13$  vs.  $20,85 \pm 6,57$  %) und ist mit  $p = 0,161$  statistisch nicht signifikant. Im Kurvenvergleich traten innerhalb der Stunden ebenfalls keine Signifikanzen auf.

In den Kurven für das 10-Tage-Verhältnis in der Abbildung 17 zeigt sich ein ähnliches Bild. Bei der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit steigt der Graph ohne Alkoholeinfluss vorerst steil bis zur 30. Minute an und flacht dann langsam mit einem auffälligen zweiten Peak wieder ab. Die Kurve unter Rotweinkonsum steigt ebenfalls bis zur 30. Minute rasch an, steigt dann weiter bis zum Peak nach 3 Stunden und sinkt dann stetig parallel zur nicht-alkoholischen Referenzkurve ab. Eine statistische Signifikanz liegt mit  $p = 0,037$  bei  $t = 0,25$  vor. Nach 30 min beträgt  $p = 0,053$  und ist statistisch nicht signifikant.

Schaut man sich die Kurven der kpEx an, zeigt sich ein steigender bogenförmiger Verlauf welcher zur 6. Stunde hin asymptotisch abflacht. Der Graph unter dem 10-tägigem Alkoholkonsum verläuft ebenfalls unter der Kurve ohne Rotweineinfluss. Der Unterschied in den Spitzenwerten liegt bei 4,19 % ( $23,81 \pm 4,9$  vs.  $19,62 \pm 5,3$  %) und ist mit  $p = 0,093$  nicht signifikant. Vergleicht man jedoch die Mittelwerte in den Kurvenverläufen fällt eine Signifikanz mit je  $p = 0,037$  nach 15 min und 30 min auf.

### 3.10 Die $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe in Abhängigkeit der Einnahmetage ohne und mit Alkoholeinfluss.

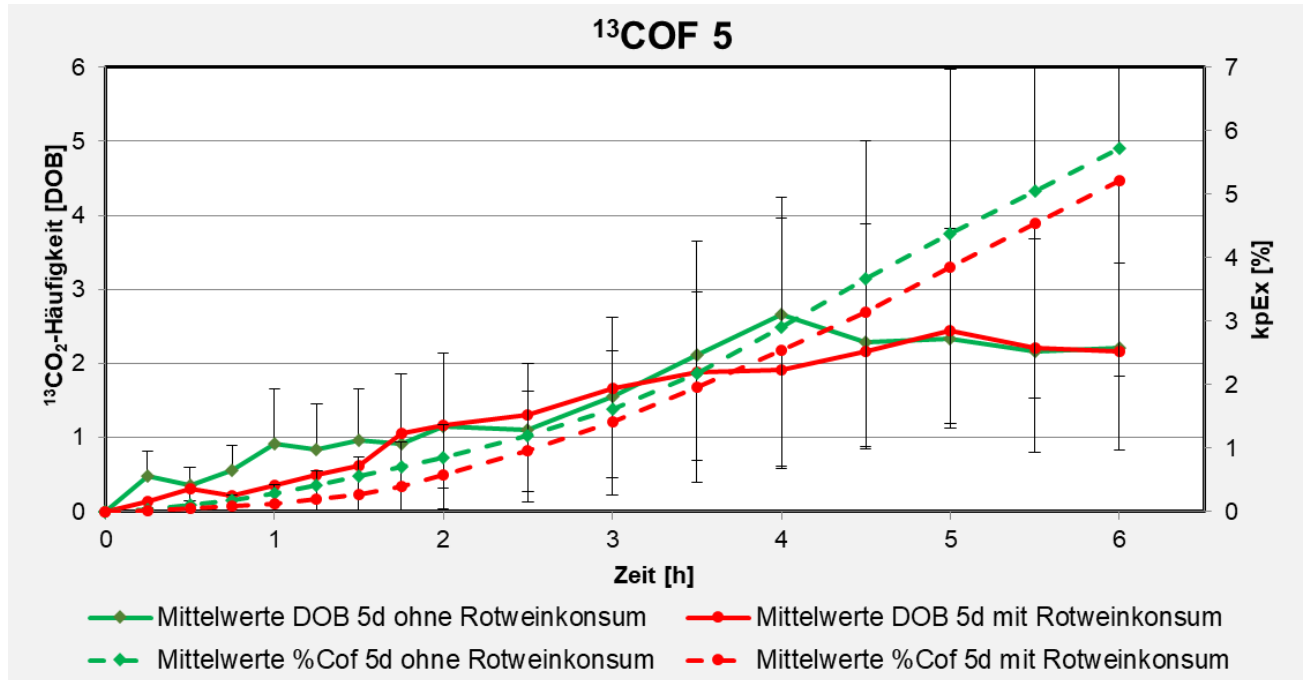


Abbildung 18:  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe 5 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss

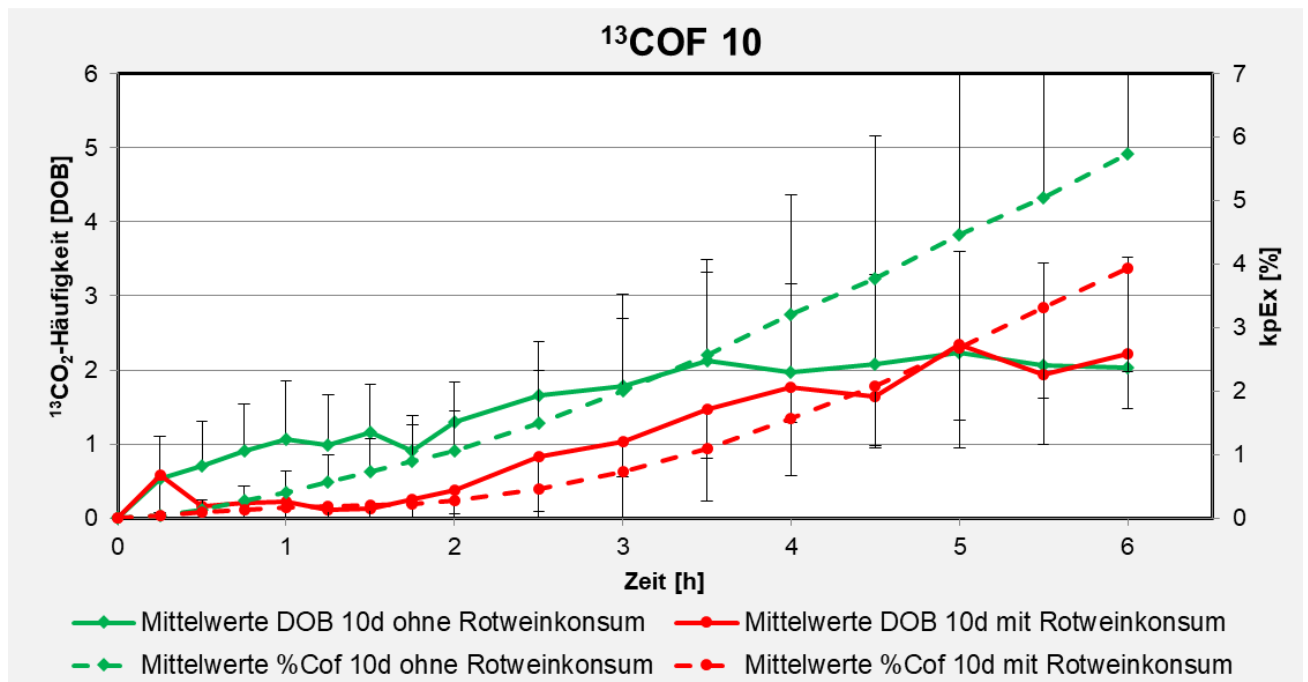


Abbildung 19:  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe 10 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss

In den Abbildungen 18 und 19 sind die  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten sowie die kpEx unter  $^{13}\text{Cof}$  in Abhängigkeit der jeweiligen Gruppen und ihrer Einnahmetage (5 vs. 10 d) aufgetragen.

Die Abbildung 18 stellt die  $^{13}\text{Cof}$ -Tracereinnahme nach 5 Tagen mit und ohne Alkohol dar. Im Vergleich der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten steigen die Graphen zunächst stetig an, die Kurve ohne Rotweineinfluss erreicht ihr Peak ( $2,67 \pm 1,58$  DOB) bei 4 Stunden und nimmt dann gleichmäßig ab. Der Graph unter Alkoholkonsum erreicht seinen Spitzenwert ( $2,45 \pm 1,33$  DOB) eine Stunde später und sinkt dann auf einem ähnlichen Niveau wie die nicht-alkoholische Referenzkurve ab. Im Kurvenverlauf besteht ein signifikanter Unterschied nach 15 min mit  $p = 0,035$  sowie nach einer 1 Stunde mit  $p = 0,033$ .

Bei der kpEx steigen beide Kurven annähernd einem exponentiellen Verlauf an. Der Graph mit Rotweineinfluss verläuft nahezu parallel unter dem Graphen ohne Alkohol. Die Spitzenwerte unterscheiden sich mit  $0,52\%$  ( $5,72 \pm 3,38$  vs.  $5,20 \pm 3,08\%$ ) und ist mit  $p = 0,445$  statistisch nicht signifikant. Im Kurvenvergleich trat eine statistische Signifikanz mit  $p = 0,036$  nach  $t = 0,25$  h auf, bis zur 90. Minute betrug  $p = 0,051$ .

In der Betrachtung der Graphen für 10 Tage der  $^{13}\text{Cof}$ -Tracereinnahme in Abbildung 17 steigen beide Graphen der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit mit und ohne Alkoholeinfluss bis zum Peak bei  $t = 5$  h an und sinken dann minimal in der letzten Stunde ab. Die Kurve unter Rotweinkonsum zeigt nach 15 Minuten einen kleinen Peak ( $0,575$  DOB). Eine statistische Signifikanz liegt mit  $p = 0,017$  in  $t = 1,5$  h und mit  $p = 0,025$  in  $t = 2$  h vor.

Die Kurven der kpEx verlaufen annähernd exponentiell steigend. Der Graph unter 10-tägigem Alkoholkonsum verläuft unter der Kurve ohne Rotweineinfluss. Im Vergleich der Peaks ergibt sich eine Differenz von  $1,56\%$  ( $5,50 \pm 3,51$  vs.  $3,94 \pm 1,64\%$ ), welche mit  $p = 0,401$  nicht signifikant ist. Auch in Gegenüberstellung der Mittelwerte in den Kurvenverläufen fällt keine statistische Signifikanz auf.

### 3.11 Zusammenfassende Darstellung der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulativen prozentualen Exhalation von 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure und [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein

In den Abbildungen 20 und 21 sind zusammenfassend die mittleren DOB-Werte sowie die kpEx von  $^{13}\text{KIC}$  (Abb. 20) und  $^{13}\text{Cof}$  (Abb. 21) grafisch dargestellt. Die Tabellen 4 und 5 legen die jeweiligen Mittelwerte der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten und die kpEx mit Standardabweichungen unter Apfel- und Rotweinkonsum zu den Messzeitpunkten dar. Dazu sind die berechneten Signifikanzen des Vergleichs angezeigt.

Zeit [h]	DOB $^{13}\text{KIC}$ ohne RW	s	DOB $^{13}\text{KIC}$ mit RW	s	Sig. (asympt. 2-seitig)	kpEx $^{13}\text{KIC}$ ohne RW [%]	s [%]	kpEx $^{13}\text{KIC}$ mit RW [%]	s [%]	Sig. (asympt. 2-seitig)
0	0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	1,000
0,25	5,272	4,47	4,083	5,48	0,223	0,476	0,42	0,354	0,46	0,231
0,5	8,433	5,85	4,600	5,14	0,020	1,709	1,25	1,111	1,34	0,078
0,75	8,906	5,34	5,222	5,14	0,022	3,270	2,14	1,978	2,18	0,020
1	8,650	4,75	5,678	4,63	0,022	4,853	2,95	2,959	2,97	0,016
1,25	9,083	4,83	6,000	4,37	0,022	6,475	3,67	3,972	3,71	0,014
1,5	8,133	4,00	6,117	3,96	0,043	8,038	4,32	5,047	4,38	0,018
1,75	8,150	3,84	6,167	2,91	0,039	9,453	4,83	6,145	4,86	0,022
2	7,717	3,61	6,028	2,57	0,044	10,866	5,25	7,222	5,15	0,020
2,5	6,889	3,37	6,161	2,81	0,248	13,495	5,92	9,433	5,51	0,020
3	6,783	3,43	6,672	2,45	0,983	15,886	6,17	11,657	5,73	0,022
3,5	5,600	2,74	5,517	2,62	0,913	18,021	6,28	13,821	5,83	0,025
4	4,733	2,32	4,600	1,72	0,695	19,836	6,13	15,619	6,03	0,016
4,5	3,811	2,20	3,761	1,71	0,896	21,339	5,88	17,109	6,12	0,018
5	3,056	2,23	3,122	1,40	0,527	22,549	5,58	18,339	6,09	0,020
5,5	2,517	2,23	2,478	1,51	0,965	23,531	5,29	19,341	6,00	0,025
6	1,933	1,89	2,117	1,34	0,286	24,313	5,04	20,166	5,93	0,025

**Tabelle 4:** Berechnete Mittelwerte (5 und 10 Tage zusammengefasst) der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kpEx von  $^{13}\text{KIC}$  im Vergleich ohne und mit Rotweinkonsum (RW) mit Standardabweichungen (s) und statistischen Signifikanzen (Sig.)

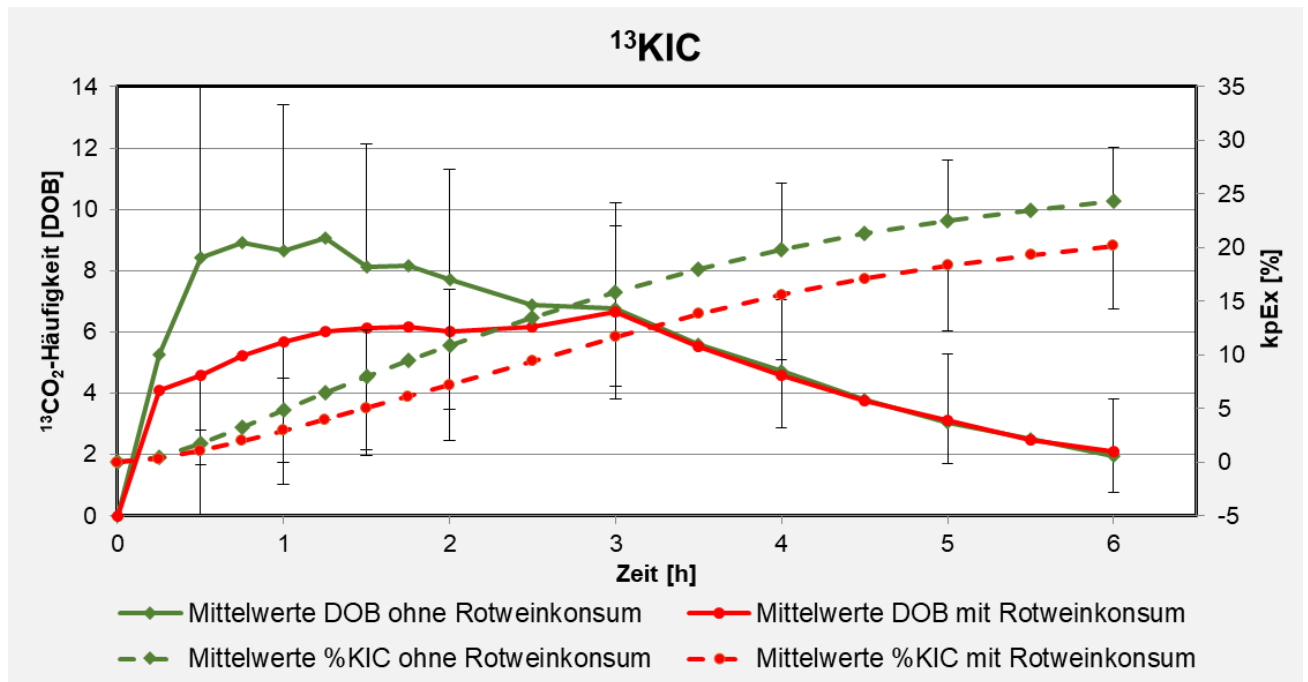
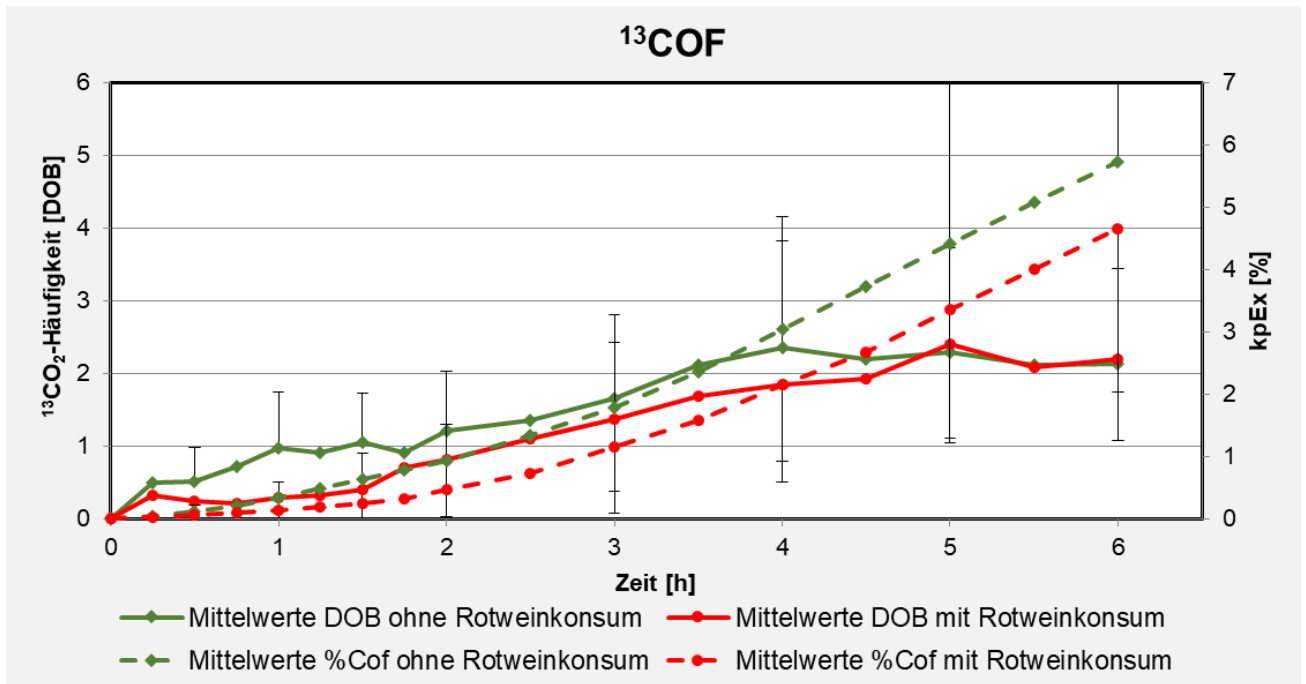


Abbildung 20: Gemittelte <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Häufigkeit und kumulative prozentuale <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Exhalation nach <sup>13</sup>KIC-Gabe ohne und mit Alkoholeinfluss (5 und 10 Tage zusammengefasst)

Zeit [h]	DOB <sup>13</sup> Cof ohne RW	s	DOB <sup>13</sup> Cof mit RW	s	Sig. (asympt. 2-seitig)	kpEx <sup>13</sup> Cof ohne RW [%]	s [%]	kpEx <sup>13</sup> Cof mit RW [%]	s [%]	Sig. (asympt. 2-seitig)
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1,000
0,25	0,503	0,46	0,328	0,79	0,109	0,038	0,04	0,024	0,06	0,070
0,5	0,511	0,47	0,239	0,28	0,64	0,116	0,11	0,068	0,13	0,062
0,75	0,715	0,51	0,211	0,36	0,011	0,210	0,17	0,100	0,16	0,025
1	0,977	0,77	0,297	0,43	0,009	0,339	0,25	0,144	0,20	0,022
1,25	0,908	0,65	0,322	0,60	0,018	0,483	0,34	0,186	0,26	0,017
1,5	1,050	0,68	0,400	0,66	0,002	0,633	0,42	0,252	0,32	0,015
1,75	0,911	0,77	0,700	1,15	0,177	0,781	0,50	0,326	0,41	0,014
2	1,216	0,82	0,817	0,78	0,058	0,942	0,57	0,464	0,51	0,018
2,5	1,348	0,87	1,094	0,95	0,408	1,332	0,77	0,735	0,76	0,022
3	1,661	1,15	1,378	1,00	0,408	1,790	1,04	1,147	1,05	0,035
3,5	2,119	1,40	1,694	1,01	0,17	2,364	1,41	1,576	1,32	0,071
4	2,360	1,46	1,850	1,05	0,136	3,044	1,80	2,150	1,56	0,048
4,5	2,195	1,44	1,928	1,09	0,516	3,736	2,20	2,674	1,81	0,048
5	2,292	1,43	2,400	1,36	0,616	4,413	2,61	3,362	2,06	0,102
5,5	2,121	1,46	2,089	1,23	0,663	5,079	3,03	4,003	2,35	0,170
6	2,137	1,31	2,189	1,11	0,499	5,725	3,44	4,657	2,62	0,248

Tabelle 5: Berechnete Mittelwerte (5 und 10 Tage zusammengefasst) der <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Häufigkeit und kpEx von <sup>13</sup>Cof im Vergleich ohne und mit Rotweinkonsum (RW) mit Standardabweichungen (s) und statistischen Signifikanzen (Sig)



**Abbildung 21:** Gemittelte  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach  $^{13}\text{Cof}$ -Gabe ohne und mit Alkoholeinfluss (5 und 10 Tage zusammengefasst)

## **4 Diskussion**

### **4.1 Diskussion des Studiendesigns**

#### **4.1.1 Testdurchführung**

Ziel dieser Arbeit war es die mitochondriale und mikrosomale Entgiftungsfunktion und Stoffwechselleistung der Leber unter moderaten Einfluss von Alkohol an gesunden Probanden zu untersuchen. In den Testversuchen verwendeten wir 3,6 ml/kg/KG/d Rotwein und als nicht-alkoholische Referenz die äquivalente Menge Apfelsaft. Weitere Studien worin Rotwein als Alkohol angewendet wurde, aber andere Tracersubstanzen für die Atemgastests zur Verwendung kamen, sind von Wutzke et al. 2008 (54), Wutzke et.al. 2008 (2), sowie Wutzke et al. (3) beschrieben. Dort verwendete man eine geringere Menge Rotwein (3,48 ml/kg/KG/d). Tatsächlich nahmen die Probanden im Durchschnitt 21,63 g (Frauen) bzw. 29,62 g (Männer) täglich reinen Alkohol zu sich, was einer höheren Dosis als die täglich empfohlenen Menge Alkohol von 10-15 g für Frauen und eine grenzwertig normale Dosis der empfohlenen Menge (20- 30 g) für Männer entsprach.

Zudem wurden beispielsweise in der Studie von Armuzzi et al. 2000 0,3 g reines Ethanol/kg KG in Lösung mit 200 ml Orangensaft gebracht und davor eine 8-stündige Nahrungskarenz eingehalten (55). Anders als in diesem Studienversuch, wo der Test mit Tracereinnahme in den Nachmittags- und Abendstunden von 17-23 Uhr stattfand, wurde dort der Test am Morgen durchgeführt.

#### **4.1.2 Rekrutierung der Probanden und Versuchsbedingungen**

Zur Durchführung der Tests wurden 18 junge gesunde Probanden einbezogen. Wir führten eine Anamnese zu gastrointestinalen und pulmonalen Operationen, Leberfunktions- und Stoffwechselstörungen, Alkohol- und Nikotinkonsum sowie Ernährungsgewohnheiten durch. Bei Auffälligkeiten wie ein starker Alkoholabusus, einer Unverträglichkeit gegenüber dem standardisierten Abendbrot oder einer chronischen Leber- und Stoffwechselerkrankung wurde die Versuchsperson aus der Studie ausgeschlossen. Um den nicht-invasiven Charakter der Atemgastests dieser

Studie zu bewahren, wurde gänzlich auf laborchemische Blutanalysen sowie histopathologische Untersuchungen wie Leberbiopsien verzichtet.

Die Probanden sammelten über 6 Stunden Atemgas. In Hinsicht auf den KICA war nach dieser Zeitspanne der Baseline- DOB-Wert annähernd wieder erreicht. Betrachtet man aber die DOB-Werte von  $^{13}\text{Cof}$ , zeigte sich dort nur eine leichte Senkung bzw. Stagnation der Werte. Aufgrunddessen, dass die Probanden in ihren Alltag integriert, die Testversuche durchgeführt haben, war eine Verlängerung der Probensammlung über zusätzliche Stunden nicht möglich. Bei der Rekrutierung der Versuchspersonen stellte sich heraus, dass den Freiwilligen die Einschränkung des Alkoholkonsums und Alkoholverhaltens schwergefallen sei, da 30 Tage lang kein anderer Alkohol als der festgelegte Rotwein eingenommen werden durfte. Darunter könnte es zu einer möglichen Incompliance gekommen sein, falls sich die Probanden nicht an den genauen Testablauf gehalten haben sollten und es somit zu einer möglichen Verfälschung der Daten gekommen sein könnte.

Fernerhin klagten einige Probanden, welche für gewöhnlich wenig Alkohol tranken darüber, dass die angesetzte Rotweinmenge etwas viel für sie gewesen sei und sie danach leichte Symptome einer beginnenden Alkoholwirkung verspürt hätten. Diese waren Redseligkeit, Euphorisierung und Hautrötung (Gesichtsrötung).

In den zwei Gruppen waren verhältnismäßig gleich viele Frauen sowie Männer aufgeteilt. Es wurde somit in den statistischen Berechnungen keine Unterscheidung zwischen den Geschlechtern vorgenommen. Die Gruppen unterschieden sich in der Dauer des Alkoholkonsums (5 d vs. 10 d) und dem dazugehörigen Tracer. Zudem wurden die Daten der Referenztestversuche mit Apfelsaft und die Testversuche mit Rotwein insgesamt verglichen (5 d und 10 d).

#### **4.1.3 Verwendung des Nicht-dispersiven-Infrarot-Spektroskops**

In dieser Studie wurden die gewonnenen Atemgase mittels eines Nicht-dispersiven-Infrarot-Spektroskops (NDIRS) analysiert. Im Vergleich zu einer Isotopenverhältnis-Massenspektroskopie (IRMS), welche ebenfalls die exakten DOB-Werte im Atemgas hätte messen können, ist die hier verwendete Messmethode kostengünstiger, benutzerfreundlicher und besitzt eine vergleichbare Genauigkeit. Weiterhin ist bei der

NDIRS eine geringere Störanfälligkeit von Vorteil. In einer Versuchsreihe von Braden et al. 1999 wurden 142 Probanden mit dyspeptischen Beschwerden auf eine *Helicobacter pylori*-Infektion mittels  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest untersucht. Die Analyse erfolgte mittels NDIRS sowie mit IRMS in doppelter Ausführung. Die Ergebnisse ergaben eine Korrelation zwischen IRMS und NDIRS mit einer hohen Sensitivität (97,8%) und Spezifität (98,9 %) für die NDIRS (56).

Mit dem NDIRS besteht zudem die Möglichkeit nicht-invasive Atemgastests in einen Klinikalltag einzuführen, da sie kurze Analysezeiten ausweist (2,56,57).

## **4.2 Diskussion der Tracersubstanzen**

### **4.2.1 Kombination von 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocaprinsäure und [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein**

Beide Tracer dienen der Untersuchung der Leberfunktion, werden aber in unterschiedlichen Zellorganismen im Körper abgebaut,  $\alpha$ -Ketoisocaprinsäure in den Mitochondrien und Coffein in den Mikrosomen. Eine Kombination von mitochondrialen und mikrosomalen Atemtesten zur ganzheitlichen Einschätzung der Leberfunktion ist sinnvoll, um chronische sowie akute Einflüsse beurteilen zu können. Weitere Studien an der Universitätsklinik- Kinderklinik Rostock befassten sich ebenfalls mit dem Rotweineinfluss auf die Leberfunktion je unter Kombination zweier Tracer:  $^{13}\text{C}$ -Methacetin und  $^{13}\text{C}$ -Methionin (2),  $^{13}\text{C}$ -Ethanol und  $^{13}\text{C}$ -Galactose (54) sowie  $^{13}\text{C}_2$ -Aminopyrin und  $^{13}\text{C}$ -Phenylalanin (3). Weitere Studien mit kombinierten Tracern sind zur Beurteilung von Lebertransplantaten von Di Campli et al. (58) und von Portincasa et. al. zur Differenzierung der entzündlichen Form der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung beschrieben (59).

### **4.2.2 Metabolisierungswege der Tracersubstanzen**

Zur korrekten Auswertung und als essentielle Grundlage der Atemgastest ist es von Bedeutung, die Metabolisierung der Tracersubstanzen zu verstehen. Diese sollen hier näher erläutert werden.

#### 4.2.2.1 Metabolisierung von 2-Keto[1-<sup>13</sup>C]isocapronsäure

Ketoisocapronsäure, sowie deren konjugierte Base, Ketoisocaproat sind Zwischenprodukte im Stoffwechselweg für L-Leucin. L-Leucin gehört zu den essentiellen Aminosäuren und zählt als Vorstufe von Fettsäuren und Ketonkörpern. Durch eine reversible Transaminierung wird das Amin von L-Leucin auf alpha-Ketoglutarat, unter Bildung von Glutamat, übertragen und dieses mittels eines Ketons ersetzt. Katalysiert wird diese Reaktion durch die verzweigtkettigen Aminosäure-Aminotransferase. Es entsteht alpha-Ketoisocapronsäure, welches über den Blutkreislauf in verschiedenen Geweben gelangt und dort oxidiert oder für die Leucin-Re-Synthese verwendet wird. Um diese Re-Synthese zu verhindern erfolgte die orale Gabe von unmarkiertem L-Leucin zur Hemmung der Transaminierung von L-Leucin. Dies führt kompetitiv zu einer Erhöhung der Decarboxylierung von <sup>13</sup>KIC.

Durch eine dehydrierende Decarboxylierung, katalysiert durch den Verzweigtketten-Dehydrogenasekomplex, entsteht zu etwa 90 % in den Lebermitochondrien aus der alpha-Ketosäure Isovaleryl-CoA. Dabei wird das markierte <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> abgespalten und kann in den Atemgasproben der Probanden gemessen werden (31,60).

Fortführend wird Isovaleryl-CoA durch Oxidierung und Hydratisierung zu 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA umgesetzt. Die Spaltung daraus liefert Acetyl-CoA und Acetacetat.

Die restlichen 5-10 % von <sup>13</sup>KIC werden im Zytosol der Leberzellen zunächst unter der KIC-Dioxygenase zu 3-Hydroxy-3-Methylbutyrat und dann entweder zu 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA und Cholesterol umgewandelt oder mit dem Urin ausgeschieden (60).

#### 4.2.2.2 Metabolisierung von [N-1,3,7-Trimethyl-<sup>13</sup>C]coffein

Die Metabolisierung von <sup>13</sup>Cof bzw. Coffein erfolgt im menschlichen Körper fast gänzlich in der Leber und kann somit zur Untersuchung der mikrosomalen metabolischen Leberfunktion genutzt werden. Bis zu 99% des oral aufgenommenen Coffeins werden schnell und vollständig im Verdauungstrakt absorbiert. Coffein reichert sich in allen Körperflüssigkeiten an und überschreitet alle biologischen

Membranen. Eine Ablagerung in Organen findet nicht statt. Über den Urin werden 1-2% des aufgenommenen Coffeins wieder ausgeschieden (61).

Über die hepatischen enzymatischen Systeme Cytochrom-P-450 und P-448, in den Mikrosomen entstehen mittels einer N-Demethylierung die aktiven Metabolite Paraxanthin, Theobromin und Theophyllin (44).

Im Wesentlichen katalysiert das nur in der Leber vorkommende CYP1A2 die 1-, 3- und 7-Demethylierung von Koffein, die 7-Demethylierung von Paraxanthin, sowie die 1- und 3-Demethylierungen von Theophyllin. Prozentual gesehen entsteht im Mittel durch die Biotransformation von Coffein 84% Paraxanthin, 12% Theophyllin und 4% Theobromin.

Des Weiteren sind an der Metabolisierung von Coffein CYP2E1 sowie CYP3A4 beteiligt, diese aber in untergeordneten Rollen.

Die N-Acetyltransferase-2 (NAT2) wandelt Paraxanthin zu 5-Acetylamino-6-formylamino-3-Methyluracil um. Dann katalysiert die Xanthinoxidase die Umwandlung von 1-Methylxanthin zu 1-Methylurinsäure (62). Die Acetylierungsaktivität wird nicht durch Alter, Geschlecht, Herkunft, körperliche Aktivität, Gewicht, Kaffeekonsum oder Alkohol beeinflusst (63).

Durch weitere Demethylierung und C8-Oxidation kommt es zur Hydratation und Oxidation mit Ringspaltung woraus sich ein Uracil-Derivat ergibt. Aufgrund der Oxidation der Methylgruppen entsteht CO<sub>2</sub>, welches wie in dieser Studie durch die Metabolisierung von <sup>13</sup>Cof als <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> in der Atemgasprobe der Probanden gemessen werden kann (53,62,64).

Zurückblickend auf das für Coffein hauptsächlich metabolisierende Cytochrom P450-Enzym CYP1A2 kann definiert werden, welche Substrate als Inhibitoren oder Induktoren am Coffein-Metabolismus beteiligt sind. Genetische Varianten, wie z. B. Poor-metabolizer oder Rapid-metabolizer, in der Verstoffwechslung und eine verminderte hepatische Metabolisierungskapazität mit steigendem Alter, beeinflusst die intra- und interindividuelle Enzymaktivität der Probanden (32).

In der Studie von Caubet et al. (2002) konnte beispielsweise gezeigt werden, dass <sup>13</sup>Cof als Tracersubstanz für das CYP1A2-Enzym geeignet ist, Induktoren und Inhibitoren zu identifizieren. Mittels <sup>13</sup>C<sub>3</sub>-Coffein-Atemgastest wurde belegt, dass eine

orale Kontrazeption CYP1A2 inhibiert und das Rauchen von Zigaretten das Enzym induziert (65).

In der Tabelle 6 sind Beispiele für Substrate, Induktoren und Inhibitoren von CYP 1A2 dargestellt.

Substrate	Inhibitoren	Induktoren
Coffein	Ciprofloxacin	Grillfleisch
Clozapin	Cimetidin	Insulin
Imipramin	Fluvoxamin	Omeprazol
Naproxen	Ticlopidin	Tabak
Tacrin	Kontrazeptiva	
Theophyllin		

**Tabelle 6:** Substrate, Induktoren und Inhibitoren von Isoenzym CYP1A2

#### 4.2.3 Externe Einflussfaktoren der Testergebnisse

Um den externen Einfluss der Ergebnisse möglichst gering zu halten wurden mehrere mögliche Störfaktoren berücksichtigt, Insbesondere die Nichteinnahme von Medikamenten sowie eine 10-tägige Nikotin-Abstinenz. Ebenso sollten die Probanden auf übermäßigen Sport verzichten und Stress vermeiden, welche zu Einflüssen auf die Stoffwechselprozesse im Körper führen könnten.

Da die Probanden die Testversuche zuhause ohne Aufsicht durchgeführt haben, muss auch hier eine mögliche Incompliance angesprochen werden. Zudem können zu einem Einfluss auf die Signifikanz der Ergebnisse z. B. eine inkorrekte Benutzung der Atemgasbeutel, eine falsche Bemessung der Apfelsaft- oder Weindosen, Abweichungen von den vorgeschriebenen Testzeiten oder Nichteinhaltung der Nahrungskarenz absehend vom standardisierten Abendbrot geführt haben.

##### 4.2.3.1 Einfluss der Nahrungsaufnahme auf die $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde eine Nahrungskarenz von drei Stunden eingehalten. Mögliche Folgen sind eine gesteigerte Oxidation von Fettssäuren und Lipolyse. Von Bedeutung ist dies, um endogene Schwankungen der  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation gering zu halten und die Verwertbarkeit der Testergebnisse zu verbessern. Einen

gesteigerten Abbau von Lipiden bei kohlenhydratarmer Ernährung wurde auch von Wutzke et al. beschrieben (66) In der Studie von Mion et al. 1995 zur Lebersteatose mit einem  $^{13}\text{C}$ -Atemgastest wurde eine Nahrungskarenz über die gesamte Nacht eingehalten und der Test am nächsten Morgen durchgeführt (67).

Um die Compliance der Probanden zu steigern und den Einfluss auf die  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation sowie die  $k_{\text{pEx}}$  durch die Nahrungsaufnahme geringzuhalten, entschieden wir uns nach der vorgegebenen Nahrungskarenz zu einem standardisierten Abendbrot zu Beginn eines Testtages.

In einer Studie von Schoeller et al. wurden mehrere Nahrungspflanzen in einer Isotopenstudie veröffentlicht, welche Auswirkungen auf die  $^{13}\text{CO}_2$ -Basiswerte haben können. Darunter zählen insbesondere  $\text{C}_4$ -Pflanzen wie Mais, Hirse und Zuckerrohr mit einem hohen Anteil an  $^{13}\text{C}$  (68). Aus diesem Grund wählten wir ein standardisiertes Abendbrot, welches aus  $^{13}\text{C}$ -armen Nahrungsmitteln -  $\text{C}_3$ -Pflanzen wie Weizen, Bohnen, Reis, viele Früchte und Gemüse- bestand. Tierische Erzeugnisse, wie Milchprodukte und Fleisch befinden sich in den  $^{13}\text{C}$ -Werten zwischen denen der  $\text{C}_3$ - und  $\text{C}_4$ -Pflanzen. Schweine- und Rindfleisch weisen durch die Fütterung von Mais einen höheren  $^{13}\text{C}$ -Anteil auf als Milchprodukte (68,69). In einer weiteren Vergleichsstudie zwischen den Vereinigten Staaten und den Ländern Japan und Deutschland stellte man fest, dass Unterschiede der  $^{13}\text{C}$ -Werte von Ei, Fleisch und Milchprodukten vorherrschen. Am geringsten waren die Werte in Deutschland, was am ehesten auf eine geringere Verfütterung von Maisezeugnissen zurückzuführen sei (70). In der Vergleichsstudie von Dubuc et al. wurde ein definiertes Frühstück mit Orangensaft, Reis und Milch angeboten, welches aus  $^{13}\text{C}$ -armen Nahrungsmitteln ( $\text{C}_3$ -Pflanzen) bestand und keine signifikante Wirkung auf die Exhalation von  $^{13}\text{CO}_2$  hatte (40).

Aufgrund dieser Erkenntnisse baten auch wir unsere Probanden auf Lebensmittel mit hohen  $^{13}\text{C}$ -Werten an den gesamten Testtagen zu verzichten.

## 4.3 Diskussion von Interaktionen

### 4.3.1 Interaktionen zwischen $^{13}\text{C}$ -Ketoisocapronsäure und Alkohol

$\alpha$ -Ketoisocapronsäure wird wie Ethanol in der mitochondrialen Matrix zu Acetyl-CoA abgebaut. Bei der enzymatischen Umwandlung wird bei beiden Substanzen  $\text{NAD}^+$  als Cofaktor benötigt welches zu  $\text{NADH}+\text{H}^+$  reduziert wird. Dies lässt vermuten, dass  $^{13}\text{KIC}$  und Ethanol bei ihrem Abbau in Konkurrenz treten und somit die Decarboxylierung von  $^{13}\text{KIC}$  gehemmt wird und zu wenig  $\text{NAD}^+$  zur Verfügung steht. Diese Annahme wird durch eine Studie von Michaletz et al. 1989 gestützt. Dort zeigte sich eine signifikante Verringerung der Ketoisocapronsäure-Decarboxylierung unter Verwendung von 3 g pro kg Ethanol an Mäusen. Es wird angenommen, dass dies auf eine ethanolbedingte Verschiebung des  $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ -Verhältnisses zurückzuführen ist (71). In der Studie von Lauterburg et. al. konnte ebenfalls eine verringerte Decarboxylierungsleistung von  $^{13}\text{C}$ -Ketoisocapronsäure-Atemgastest (KICA) unter akutem Ethanoleinfluss (0,5 g/kg) signifikant dargestellt werden (72). Interessant ist, dass geschlechtsspezifische Unterschiede bei der  $^{13}\text{KIC}$ -Decarboxylierung auftreten. Diese sei bei Frauen höher als bei Männern und würde unter Ethanoleinfluss signifikant vermindert sein. Gründe dafür können möglicherweise eine hormonelle Beeinträchtigung des  $^{13}\text{KIC}$ -Stoffwechsels sein und eine niedrigere Aktivität der Alkoholdehydrogenase, welche zu höheren Alkohol-Blutspiegeln führt (73).

Ferner sollten auch die mitochondrialen Veränderungen unter schweren Alkoholabusus betrachtet werden, welche insgesamt die Leistung der hepatischen Mitochondrien beeinflusst. Es kommt zu funktionellen Störungen wie eine reduzierte Atmungskapazität und oxidative Phosphorylierung sowie zu morphologischen Veränderungen wie Megamitochondrien, Pleomorphismus und kristalloide Einschlüsse (74).

#### 4.3.2 Interaktionen zwischen [<sup>13</sup>C<sub>3</sub>]coffein und Alkohol

Bei akuten und besonders hohem Alkoholkonsum wird das Cytochrom-P450-Isoenzym CYP2E1 durch Ethanol gehemmt. Zu ca. drei bis acht Prozent wird Ethanol auch über MEOS (mikrosomales ethanoxidierendes System) unter der Katalyse von CYP2E1 abgebaut und tritt somit in Konkurrenz mit anderen Substraten, welche gleichzeitig zugeführt werden. Coffein ist eines dieser Wirkstoffe welches, wenn auch zu geringeren Anteilen als CYP1A2, über CYP2E1 abgebaut wird. Die Konzentration im Blutplasmaspiegel steigt an und somit wird Coffein langsamer abgebaut. Die aufputschende Wirkung von Coffein könnte hierunter gesteigert werden und Anzeichen eines einsetzenden Rausches verdecken (75,76).

In der Literatur gibt es eine Vielzahl an Studien zwischen der Einnahme von Coffein und Alkohol, insbesondere in Verbindung mit koffeinhaltigen Energy-Drinks (77). Pharmakologische Wechselwirkungen wurden an Tiermodellen und Menschen untersucht sowie das Verhalten und Reaktionen erforscht. Studien haben gezeigt, dass Koffein in festen Dosen ethanolbedingten psychomotorischen und kognitiven Defiziten entgegenwirken kann (78–80) In der Studie von Attwood et al, 2012 wurden 28 Probanden auf das Verhalten in Kombination von Coffein und Alkohol und nur mit Coffein oder Alkohol allein untersucht. Die Dosen in der Studie nach einmaliger Gabe von Ethanol (0,6 g/kg) und Coffein (2,0 mg/kg) lagen 40 % und 50 % über der in unserer Studie verabreichten Dosis an Ethanol bzw. <sup>13</sup>Cof. Dort ergab sich eine erhöhte Stimulation im Alkohol/Koffein-Versuch, welches die Annahme unterstützte, dass Personen unter koffeinhaltigen alkoholischen Getränken länger konsumieren können.

Zudem stellte man in weiteren Versuchen fest, dass die Kombination von Alkohol und Coffein die Lokomotorik und dadurch auch die alkoholbedingte Ataxie, bei einer stimulierenden Ethanoldosis (1,75 g/kg KG) zunahm, bei ansteigenden Dosen die Bewegungsaktivität jedoch wieder abnahm (81,82).

## 4.4 Diskussion der Messwerte

### 4.4.1 Die $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit nach Tracer-Einnahme

Betrachtet man die Kurven der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit unter  $^{13}\text{KIC}$  und  $^{13}\text{Cof}$  unterscheiden sich die Kurven deutlich voneinander. Bei beiden fällt zwar ein Ansteigen der Kurven auf, jedoch bei  $^{13}\text{KIC}$  rascher und steiler als bei  $^{13}\text{Cof}$ . Es kommt zu einem Maximum, um sich dann an das Baseline-Niveau wieder anzunähern ( $^{13}\text{KIC}$ ) bzw. zu sinken ( $^{13}\text{Cof}$ ).

Bei  $^{13}\text{KIC}$  ist auffällig, dass die Kurven weniger steil ansteigen und die Maxima später erreicht werden als in den Studien von Candelli, et al., Lauterburg et al. sowie Grattagliano, et al. (72,73,83). Dort wurde der Tracer nüchtern und in Orangensaft bzw. in Ethanol aufgelöst eingenommen. Gründe dafür sind am ehesten das schnellere An- und Abfluten des Tracers, da Flüssigkeiten im Magen schneller entleert werden als feste Nahrungsbestandteile (47). In der vorliegenden Studie läuft der Resorptionsprozess verzögert ab, da beide Tracer mit dem standardisierten Abendbrot, somit mit festen Nahrungsbestandteilen zusammen eingenommen wurde. (47,84). Auch bei  $^{13}\text{Cof}$  fallen eine flachere Kurve und spätere Maxima auf.

In der vorliegenden Studie erfolgte eine 6-stündige Probenentnahme. Bei den Probanden konnte ein weiterhin für sie gewöhnlicher Tagesablauf gewährleistet und somit die Compliance erhöht werden. Ebenfalls zeigte sich bei beiden Tracern ein zeitiges Auftreten der Maxima und ein Absinken und Annäherung an die Baseline. Bereits in den Tests von Schoeller et al. (1982) konnte beobachtet werden, dass lange Messreihen gemieden werden können, da die größte Sensitivität der Atemtests in den Atemproben bereits kurz nach Tracereinnahme eintritt (85). In der Studie von Nern et al. wurde eine 8-stündige Probenentnahme vorgenommen, da die Tracereinnahme, wie in dieser Studie, in Verbindung mit fester Nahrung erfolgte. Damit sollten mögliche Verzögerungen aufgrund der verlangsamt Wirkung dargestellt werden (53).

#### 4.4.2 Differenzen der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure

Zu Beginn des Vergleichs zwischen der Einnahme von Apfelsaft und Rotwein mit Hilfe des KICA ist zu bemerken, dass sich die Graphen aller nicht-alkoholischen Testreihen in den DOB-Werten sowie in den  $\text{kpEx}$  fast ausschließlich über denen der Testreihen unter Rotweinkonsum abzeichnen lassen. Dies deutet darauf hin, dass die hier veranlasste moderate Menge des Rotweins eine Auswirkung auf die Entgiftungsfunktion der Leber aufzeigt. Deutlich wird dies durch den flacheren Anstieg der Kurven sowie den niedrigeren und zeitlich verzögerten Maximalwerten unter Einfluss von Alkohol. Überdies konnten in der Studie von Candelli et al. (2007) neben einer geschlechtsspezifischen Untersuchung mit 50 gesunden Probanden (25 Frauen und 25 Männer), nachgewiesen werden, dass eine signifikante Reduktion der Oxidationsrate sowie eine zeitliche Verzögerung in den Maximalwerten resultierte. Dabei wurde nach einmaliger Einnahme von 200 ml Orangensaft (Referenz) bzw. nach 0,5 g/kg KG Ethanol das Atemgas je über zwei Stunden gesammelt. Die Dosis für  $^{13}\text{KIC}$  betrug 1 mg/kg KG und für L-Leucin 20 mg/kg KG. In der vorliegenden Studie wurde zum Vergleich ca. ein Drittel weniger Ethanol eingesetzt (0,36 g/kg KG), jedoch über einen längeren Zeitraum. Die Dosis des Tracers war in unserer Studie mit 2 mg/kg KG ebenfalls verdoppelt (73). Des Weiteren konnten bei Lauterburg et al. (1995) mit einer erhöhten Alkoholdosis nach einmaliger Gabe von 0,5 g/kg KG an acht gesunden Probanden signifikante Unterschiede in der  $^{13}\text{KIC}$ -Decarboxylierung erfasst werden.

Inwieweit die statistischen Berechnungen dieser Studie signifikante Differenzen bei geringerer Alkoholdosis aber längerfristiger Einnahme Auswirkungen auf die Entgiftungsfunktion der Leber nachweisen können, soll fortführend erläutert werden.

Bei den ausgewerteten Testergebnissen konnten zunächst zwei statistische Signifikanzen in den DOB-Werten für eine 5-tägige Testdurchführung mit und ohne Rotweinkonsum und eine signifikante Differenz in der 10-tägigen Testdurchführung ermittelt werden. Diese traten bei je fünf Tagen nach 1,25 h ( $p = 0,05$ ) sowie nach 1,75 h ( $p = 0,036$ ) auf. Nach zehn Tagen zeigte sich die Signifikanz mit  $p = 0,037$  bereits in den ersten 15 min nach der  $^{13}\text{KIC}$ - Tracereinnahme. Weitere signifikante Differenzen traten im Anschluss nicht mehr auf.

Bei der kpEx ließen sich ebenfalls nur wenige Signifikanzen darstellen. Unter dem 5-tägigen Apfel- bzw. Rotweinkonsum ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, jedoch konnten im Vergleich der 10-tägigen Probandengruppe, zwischen Apfelsaft und Rotwein, zwei Signifikanzen nachgewiesen werden. 15 und 30 Minuten nach der Tracereinnahme betrug  $p = 0,037$  in den ermittelten Werten.

Eine Ursache für die hier vereinzelt auftretende Anzahl an Signifikanzen ist einerseits in der geringen Probandenanzahl zu vermuten, andererseits auch an der Menge des Rotweins, welche wir als moderat eingeordnet hatten.

In der Studie von Candelli et al. (2007) konnten mehr Versuchspersonen ( $n = 50$ ) rekrutiert werden, um einen geschlechtsspezifischen Unterschied mittels KICA unter Einnahme von Ethanol zu untersuchen (73). Im Vergleich führten in der vorliegenden Studie 8 Probanden den KICA nach je 5 Tagen und 10 Probanden nach je 10 Tagen durch.

Dauer und Art der Getränkeaufnahme	DOB-Peak Mittelwert [DOB]	s [DOB]	Zeit bis Peak [min]	kpEx [%]	s [%]
5 Tage ohne Alkohol	11,99	3,94	75	24,95	5,13
10 Tage ohne Alkohol	7,76	5,86	30	23,81	4,90
Durchschnitt ohne Alkohol	9,08	4,84	75	24,31	5,04
5 Tage mit Alkohol	6,65	3,93	90	20,85	6,57
10 Tage mit Alkohol	6,71	1,95	180	19,62	5,30
Durchschnitt mit Alkohol	6,67	2,45	180	20,17	5,93

**Tabelle 7:** Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter  $^{13}\text{KIC}$  mit und ohne Alkohol

Betrachtet man die DOB- Spitzenwerte sowie die maximale kpEx ohne und mit Alkohol (Tabelle 7), fällt auf, dass ohne den Rotwein die Maximalwerte höher sind als die

Spitzenwerte mit Rotwein, unabhängig davon, ob die Probanden fünf Tage oder zehn Tage Alkohol getrunken hatten. Auch die Zeit bis zum Erreichen der Spitzenwerte ist gegenüber der nicht-alkoholischen Testdurchführung verlängert. Bei fünf Tagen mit und ohne Alkohol handelt es sich um 15 min Zeitverzögerung zu den exakten Messzeiten. Bei der 10-tägigen Testdurchführung beträgt die Zeitverzögerung sogar 2,5 Stunden. In der Gesamtheit ist eine Zeitverzögerung um 1,75 h ersichtlich. Signifikanzen treten im Vergleich zu den direkten Maximalwerten der Oxidationswerte ( $11,99 \pm 3,94$  vs.  $6,65 \pm 3,93$  DOB) bei fünf Tagen mit  $p = 0,035$  und bei der kpEx ( $24,31 \pm 5,04$  vs.  $20,17 \pm 5,93$  %) mit einem Wert von  $p = 0,025$  im gesamten Vergleich ohne und mit Alkohol auf. Bei zehn Tagen zwischen Referenz und Rotweinkonsum ist keine statistische Signifikanz erkennbar.

Um eindeutigere Ergebnisse zu erzielen und um genauere Aussagen über die Ergebnisse treffen zu können, wurden nochmals alle 18 Probanden zwischen dem nichtalkoholischen und dem alkoholischen Testversuch (fünf und zehn Tage) statistisch gegenübergestellt. Dies erhöhte die Stichprobenanzahl und es resultierten daraus häufiger signifikante Differenzen. In den  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten konnten sieben Signifikanzen aufgezeigt werden. Die deutlichen Unterschiede begannen ab der 30. Minute bis zur 120. Minute. (Tabelle 4) Nach zwei Stunden ergaben sich keine Signifikanzen mehr. Vom Zeitpunkt  $t = 3$  h näherten sich die Mittelwerte der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit fast wieder identisch an.

Bei der kpEx des  $^{13}\text{KIC}$ -Tracers konnte ab der 45. Minute bis zur Beendigung des Testes nach sechs Stunden in jeder Messung signifikante Differenzen zwischen dem Apfel- und Rotweinkonsum dargestellt werden. (Tabelle 4)

Ebenso wie in der Studie von Candelli et al. (2007) zeigten sich diese signifikanten Unterschiede in den ersten zwei Stunden nach Einnahme von  $^{13}\text{KIC}$ , unabhängig davon ob Frauen oder Männer den Versuch durchgeführt hatten. Der Versuch wurde nach den zwei Stunden beendet. Interessant wären die statistischen Ergebnisse gewesen, wenn die Testreihe wie in der vorliegenden Studie für weitere Stunden fortgeführt oder die gleiche Ethandosis über mehrere Tage verabreicht worden wäre, womit man auch diese ermittelten Daten hätte vergleichen können.

Ferner wurde der Durchschnitt der Zeiten bis zum Erreichen des DOB-Peaks aller Probanden unter Apfel- und Rotweinkonsum ( $1,65 \pm 1,34$  vs  $2,24 \pm 1,36$  h) verglichen. Die berechnete mittlere Verzögerung von 0,59 h zeigte sich signifikant mit  $p = 0,049$ .

Diese zeitliche Verzögerung der Spitzenwerte unter Alkoholeinfluss konnte auch von Candelli et al. (2007) dargelegt werden (73).

Die Ergebnisse in dieser Studie deuten darauf hin, dass bereits bei einem längerfristigen moderaten Rotweinkonsum signifikante Unterschiede zu ermitteln sind und unterstützt die Aussage von vielen Studien (71,86–88), dass der KICA ein nützliches Instrument zur Bewertung der mitochondrialen Leberfunktion ist. Insbesondere in Studien mit höheren Alkoholdosen (72,73) sowie bei Untersuchungen in Verbindung mit Lebererkrankungen, wie akute und chronische Leberzirrhose, Leberschädigungen durch Xenobiotika sowie Fettleber liefert der KICA aussagekräftige Ergebnisse (74).

In der Studie von Parra et al. wurden 24 gesunde Probanden mit 20 lebererkrankten Probanden (darunter sieben mit schwerem Alkoholabusus) auf die Variabilität des KICA verglichen. Sie beobachteten, dass der Prozentsatz des oxidierten  $^{13}\text{KIC}$  bei den Patienten mit Lebererkrankung durch schweren Alkoholismus signifikant niedriger war als bei nichtalkoholischen Patienten ( $p = 0,003$ ) und gesunden Freiwilligen ( $p = 0,001$ ). Es wurde daraus geschlossen, dass der KICA zur Bewertung der Auswirkungen auf die mitochondriale Leberoxidation in Verbindung mit Alkoholismus gut geeignet sei (86).

Als Gegenüberstellung fanden sich in der Studie von Brentsen et al. keine signifikanten Unterschiede der  $^{13}\text{KIC}$ -Decarboxylierung zu langfristigen Auswirkungen auf die Leber nach übermäßigen Alkoholkonsum. Untersucht wurden dort 13 Patienten mit starkem Alkoholabusus und bereits auffälligen Leberwerten mit einer Referenzgruppe von zehn gesunden Probanden (89).

#### **4.4.3 Differenzen der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein**

Auch im Vergleich der Probandentests mit  $^{13}\text{Cof}$  fällt auf, dass die Kurven der  $\text{kpEx}$  nach der Testreihe mit Alkohol unter denen mit Apfelsaft verlaufen, Bei dem Test mit fünf Tagen besteht ein deutlich geringerer Abstand zwischen Referenz und Rotweinkonsum als unter zehn Tagen. Die Graphen der DOB-Werte stellen sich wechselhaft dar, obwohl die Kurven unter Rotweineinfluss größtenteils in ihrem Verlauf unter denen ohne Alkohol verlaufen. Speziell die Spitzenwerte der 5-tägigen, 10-

tägigen und gemittelten alkoholischen Testreihen überkreuzen die nichtalkoholischen Graphen. Zeitliche Verzögerungen der DOB-Spitzenwerte unter Rotweingenuss treten bei dem 5-tägigen und gemittelten Testversuch auf. Allerdings sind die Maximalwerte bei der 10-tägigen Untersuchung und im gesamten Durchschnitt höher mit Alkohol als ohne. Folglich könnte daraus geschlossen werden, dass der hier eingenommene Rotwein mit moderater Dosis durch enthaltene Polyphenole und Ethanol einen Einfluss auf die Entgiftungsfunktion der Leber auf mikrosomaler Ebene bewirkt.

Bei den statistischen Berechnungen konnten zunächst zwei Signifikanzen in den DOB-Werten für eine 5-tägige Testdurchführung mit und ohne Rotweinkonsum sowie zwei signifikante Differenzen in der 10-tägigen Testdurchführung dargestellt werden. Bei je fünf Tagen traten diese nach 15 min ( $p = 0,035$ ) sowie nach 1 h ( $p = 0,033$ ) auf. Nach zehn Tagen der Gegenüberstellung zeigten sich signifikante Differenzen mit  $p = 0,017$  in der 90. Minute und  $p = 0,025$  in der 2. Stunde nach der  $^{13}\text{Cof}$ -Tracereinnahme. Weitere Signifikanzen traten nicht auf.

Des Weiteren ließen sich nur wenige Signifikanzen im Vergleich der  $\text{kpEx}$  ermitteln. Unter dem 5-tägigen Apfel- bzw. Rotweinkonsum zeigte sich ein signifikanter Unterschied nach 15 min mit  $p = 0,036$ . Auffällig waren die Signifikanzen bis zur 90. Minute, welche alle mit  $p = 0,051$  berechnet wurden und sich somit nah am Signifikanzniveau präsentierten. Im Vergleich der 10-tägigen Probandengruppe zwischen Apfelsaft und Rotwein konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Die erläuterten Signifikanzen treten in den Berechnungen nur vereinzelt auf. Ein möglicher Grund dafür ist die geringe Anzahl an Probanden und auch die Menge des Rotweins, welchen wir als moderat eingeordnet hatten. Des Weiteren ist zu bemerken, dass die Dosis des  $^{13}\text{Cof}$ -Tracers mit 1 mg/kg KG niedrig gegenüber anderen Studien wie beispielsweise in Park et. al. (2003) mit 2 mg/kg KG (90) gewählt wurde, sodass möglicherweise nur geringe Auswirkungen auf die mikrosomale Entgiftungsfunktion der Leber zu erheben sind.

In der Studie von Park et al. wurden 25 gesunde Freiwillige, 20 Patienten mit chronischer Hepatitis B oder C sowie 20 Patienten mit Zirrhose mittels des CAT in Gegenüberstellung der Coffein-Plasmaclearance untersucht. Es ergab sich dort eine stark signifikante Korrelation zwischen dem  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein-Atemgastest (CAT) mit der Plasma-Clearance ( $p < 0,001$ ) über einen breiten Bereich der Coffein-Clearance.

Zirrhotische Patienten wiesen signifikant geringere CAT-Werte gegenüber hepatischen Patienten und zu Kontrollen auf (90). Im Vergleich führten in der vorliegenden Studie 10 Probanden den CAT nach je 5 Tagen und 8 Probanden nach je 10 Tagen durch.

Dauer und Art der Getränkeaufnahme	DOB-Peak Mittelwert [DOB]	s [DOB]	Zeit bis Peak [min]	kpEx [%]	s [%]
5 Tage ohne Alkohol	2,67	1,58	240	5,72	3,38
10 Tage ohne Alkohol	2,24	1,36	300	5,74	3,51
Durchschnitt ohne Alkohol	2,36	1,46	240	5,72	3,43
5 Tage mit Alkohol	2,45	1,33	300	5,20	3,08
10 Tage mit Alkohol	2,34	1,39	300	3,94	1,64
Durchschnitt mit Alkohol	2,40	1,36	300	4,66	2,62

**Tabelle 8:** Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein mit und ohne Alkohol

In der Tabelle 8 sind die maximalen  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten mit deren zeitlichen Erreichen und die kpEx unter  $^{13}\text{Cof}$  mit und ohne Alkohol dargestellt. Auffällig ist, dass der Spitzenwert von fünf Tagen ohne Alkohol höher ist als der mit Alkohol ( $2,67 \pm 1,58$  vs.  $2,45 \pm 1,33$  DOB), jedoch wird der Maximalwert erst 60 min später erreicht. Bei den maximalen DOB-Werten der 10-tägigen Testdurchführung liegt der höchste Wert unter Rotweinkonsum bei  $2,34 \pm 1,39$  DOB, welcher, anders als bei dem 5-tägigen Test, höher ist als der ohne Alkoholeinfluss mit  $2,24 \pm 1,36$  DOB. Beide Maximalwerte werden zur gleichen Zeit nach fünf Stunden erreicht. Des Weiteren ist der gemittelte DOB-Spitzenwert unter Rotwein ebenfalls minimal höher als der ohne Alkohol ( $2,40 \pm 1,36$  vs  $2,36 \pm 1,46$  DOB) und es fand sich eine Zeitverzögerung wie in der 5-tägigen Testdurchführung von 60 min. Signifikante Unterschiede lassen sich im Vergleich der DOB-Spitzenwerte nicht ermitteln. Bei den maximalen Endwerten der kpEx befinden

sich alle Werte der nicht-alkoholischen Testdurchführung über denen der unter Rotweinkonsum. Statistische Signifikanzen sind auch hier nicht erkennbar.

Wie bei dem <sup>13</sup>KIC-Tracer, entschieden wir uns ebenso alle 18 Freiwilligen zwischen dem nichtalkoholischen und dem alkoholischen Testversuch (fünf und zehn Tage) zu vergleichen, damit die Stichprobenzahl erhöht wurde, um somit eventuell genauere Ergebnisse erzielen zu können.

In den DOB-Werten konnten vier Signifikanzen aufgezeigt werden. Die deutlichen Differenzen konnten ab der 45. Minute bis zur 90. Minute dargestellt werden (s. Tab. 5). Danach konnten keine Signifikanzen mehr beobachtet werden. In den statistischen Berechnungen der  $k_{pEx}$  des <sup>13</sup>Cof-Tracers ergaben sich ab der 45. Minute bis zur 3. Stunde des Testes signifikante Unterschiede zwischen Apfel- und Rotweinkonsum. Nach 3,5 h zeigte sich keine Signifikanz ( $p = 0,071$ ), jedoch wieder nach 4 und 4,5 h. (s. Tab. 5)

Eine signifikante Differenz der zeitlichen Verzögerung bis zum Erreichen der probandenspezifischen DOB-Peaks zwischen dem nicht-alkoholischen und alkoholischen Testversuch konnten wir mit 0,13 h und  $p = 0,715$  nicht darlegen.

Die Ergebnisse in dieser Studie zeigen eine Tendenz dahingehend, dass bereits bei einem längerfristigen moderaten Rotweinkonsum signifikante Unterschiede zu ermitteln sind. Vorzugsweise im Verlauf des Testes lassen sich zwischen Apfelsaft und Rotwein diese Differenzen darstellen. Dennoch treten die DOB-Spitzenwerte generell sehr spät auf (4 h und 5 h), die Kurven verlaufen eher flach ohne steilen Anstieg und Abfall und die Endwerte nach den Maxima sinken geringfügig. Eine Verlängerung der Testdurchführung hätte den weiteren Verlauf zur Annäherung an die Baseline der <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Häufigkeit möglicherweise besser darstellen können. Außerdem hätte eine Erhöhung der Dosis des <sup>13</sup>Cof-Tracers in der Messung von aussagekräftigeren Daten hilfreich sein können. Zu bemerken ist, dass in der Studie von Nern et. al. (53) ebenfalls eine Tracersdosis von 1 mg/kg KG zur Untersuchung des Einflusses von Rauchen und Kaffeekonsum auf die Entgiftungsfunktion der Leber verwendet wurde und dort hochsignifikante Differenzen ermittelt wurden. Dies entkräftet die Aussage einer möglichen zu geringen <sup>13</sup>Cof -Dosis.

Dennoch kann der CAT einen großen Nutzen zur Beurteilung der mikrosomalen Leberfunktion vorzeigen. Dies ist in vielen Studien dargelegt. Vor allem bei Versuchen

in Verbindung mit Nikotinabusus oder fortgeschrittenen Leberfunktionsstörungen kann der CAT als valider Indikator dienen und aussagekräftige Ergebnisse erzielen (53,65,90,91).

## **4.5 Diskussion des Rotweineinflusses**

Die vorliegende Arbeit gehört durch die kombinierte Untersuchung von Rotwein und  $^{13}\text{C}_2$ -Atemtests zu weiteren Studien, die im Forschungslabor der Kinder- und Jugendklinik Universität Rostock bereits veröffentlicht wurden. Mittels  $^{13}\text{C}$ -Methacetin,  $^{13}\text{C}$ -Methionin,  $^{13}\text{C}$ -Galaktose,  $^{13}\text{C}$ -Ethanol,  $^{13}\text{C}_2$ -Aminopyrin und  $^{13}\text{C}$ -Phenylalanin wurde ebenfalls der Einfluss eines kurzzeitigen moderaten Rotweingenusses auf die Entgiftungsfunktion der Leber hin untersucht. Es fanden sich bei diesen Studien keine oder nur wenige eindeutige Hinweise darauf, dass die Entgiftungsfunktion der Leber unter Rotweingenuss beeinflusst wird (2,3,54).

### **4.5.1 Einfluss des Rotweins auf den $^{13}\text{C}$ -KIC-Atemgastest**

In dieser Studie beobachteten wir insbesondere bei  $^{13}\text{C}$ -Ketoisocapronsäure eine signifikant verminderte Leberfunktionsleistung in den DOB-Werten, der  $k_{\text{pEx}}$  sowie bei der zeitlichen Verzögerung des Maximums unter Rotweineinfluss. Es signalisiert, dass die mitochondriale Leberfunktion durch den gesteigerten Abbau von Acetaldehyd und die gleichzeitige Metabolisierung von  $^{13}\text{C}$ -KIC negativ beeinträchtigt wird. Zusätzlich kommt es zur Freisetzung von freien Radikalen und daraus resultierend oxidativen Stress für die Zelle und die Mitochondrien. Rotwein ist in der Lage, wie in vielen Studien bereits bestätigt (15,92,93), dem entstehenden oxidativen Stress durch seine protektiven Effekte entgegenzuwirken, reicht aber in dieser Studie vermutlich nicht aus um den initial schädigenden Effekt durch Ethanol aufzuheben (2). Zu diskutieren wäre eine Verlängerung des Rotweinkonsums, um eventuell einen langanhaltenden schützenden Effekt durch die im Rotwein befindlichen Antioxidantien und Polyphenole, besonders Resveratrol, aufzubauen. Gesunde Mitochondrien sind eine Voraussetzung für die zelluläre Gesundheit in Organen und Geweben. Jede Substanz, welche die Leistung der Mitochondrien unter pathologischen Bedingungen verbessert, besitzt großes Potenzial für die Behandlung von Krankheiten.

#### 4.5.2 Einfluss des Rotweins auf den $^{13}\text{C}$ -Atemgastest

Unter der Kombination von  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein und Rotwein konnte man klar erkennen, dass die Ergebnisse gegenüber der nicht-alkoholischen Referenz meist vermindert waren. Von der 45.-90. Minute kam es zu signifikanten Veränderungen. Die Differenzen in den DOB-Spitzenwerten, im Endwert der  $k_{\text{pEx}}$  und in der zeitlichen Verzögerung des DOB-Maximums waren nicht signifikant. Es lässt sich daraus schließen, dass der mikrosomale Stoffwechsel unter dem Rotweingenuss weniger beeinträchtigt wurde als der mitochondriale. Bei Langzeitversuchen (10 Wochen) mit Ratten wurde unter Konsum von Ethanol, Rotwein oder alkoholfreien Rotwein die Cytochrom P450-abhängige Oxidation von Ethanol untersucht. Es wurde beobachtet, dass unter Ethanol Cytochrom P450 und das Isoenzym CYP2E1 induziert wurden, unter Rotwein diese Auswirkungen aber vermindert waren. Im Plasma erhöhte Rotwein die antioxidative Kapazität. Der alkoholfreie Rotwein habe den Gehalt an Cytochrom P450 vermindert und die Ethanoloxidation deutlich reduziert. So kann angenommen werden, dass Rotwein die ethanolinduzierten erhöhten mikrosomalen Parameter abschwächt und dies ursächlich durch die antioxidativen Eigenschaften des Rotwein hervorgerufen zu sein scheint (94). In Studien von Piver et al. (2001) und Mikstacka et al. (2008) wurde beschrieben, dass Resveratrol Einfluss auf Cytochrom P450 -Isoenzyme hat, besonders diejenigen mit Beteiligung an der Aktivierung von Prokarzinogenen und sei somit nachweislich in der Lage, die Entstehung und das Fortschreiten von Tumoren zu hemmen. Rotweinfeststoffe und Resveratrol erwiesen sich als Hemmstoffe für CYP3A4, CYP2E1 und CYP1A (95,96). Hieraus ergibt für diese Studie die Frage, ob auch der  $^{13}\text{C}$ -Stoffwechsel durch Resveratrol über das Cytochrom P450-System beeinflusst wird.

In weiteren Arbeiten wird beschrieben, dass chronischer Alkoholabusus das Cytochrom P450-System (CYP2E1) induziert und das anhaltender Alkoholgenuss zu einer beschleunigten Metabolisierung von Ethanol führt (97–99).

Unter akutem Alkoholeinfluss kann ein verzögerter Abbau von Cytochrom-P450-abhängigen Substanzen durch am ehesten kompetitive Interaktionen zu erwarten sein (99,100). Auch bei Nista et al. wurde für den  $^{13}\text{C}_2$ -Aminopyrin- Atemgastest ein Abfall der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten kurz nach Alkoholaufnahme beschrieben.  $^{13}\text{C}_2$ -Aminopyrin sowie  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein sind vom hepatischen Blutfluss unabhängig und werden fast

ausschließlich über das mikrosomale Cytochrom-P450-System und deren Isoenzyme verstoffwechselt (101). Demzufolge sollte auch an eine direkte Beeinflussung der  $^{13}\text{C}$ -Metabolisierung durch den verabreichten Alkohol gedacht werden. Hierbei ist zu evaluieren in welchem Maß  $^{13}\text{C}$  über CYP2E1 metabolisiert wird und ob der 5- bzw. 10-tägigen moderate Rotweinkonsum, durch eine Aktivierung des MEOS aufgrund einer probandenindividuellen Verstoffwechslung CYP2E1 kompetitiv hemmt.

#### 4.6 Praxisrelevanz der $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests

In den letzten Jahren sind die  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtests immer weiter erforscht worden, insbesondere auf ihren nicht-invasiven Nutzen im klinischen Alltag. Neben der Untersuchung der dynamischen Leberfunktionen und deren mögliche Aussagen über die Stadien der Leberzirrhose, der NASH und Steatose (39) gibt es auch weitere praxisrelevante Atemtests mit hoher Patientenakzeptanz. Proben können unmittelbar analysiert werden oder per Versand an Labore geschickt werden, sodass sich Atemtests auch in der Primärversorgung durchführen lassen.

Einer der bekanntesten Verwendung stabiler Isotope ist der  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Test zum Nachweis einer Infektion des Magens mit *Helicobacter pylori* (102,103). Durch  $^{13}\text{C}$ -Octansäure oder  $^{13}\text{C}$ -Essigsäure markierte Testmahlzeiten kann die Magenentleerung bestimmt werden, welche im Vergleich zur Szintigrafie ebenfalls zuverlässige Ergebnisse erzielen (104). Bei der Diagnosefindung einer exokrinen Pankreasinsuffizienz ist der klinische Einsatz, aufgrund von hohen Kosten, langen Testzeiten und vielen Proben noch begrenzt (4).

An der Charité-Universitätsmedizin Berlin (Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie) entwickelte man 2009 den LiMAX®-Test (maximum liver function capacity), eine Möglichkeit die aktuelle quantitative Leberfunktion genau, verlässlich und praktisch zu ermitteln. Er basiert auf einem  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Atemgastest.  $^{13}\text{C}$ -Methacetin wird intravenös appliziert und in den Hepatozyten über Cytochrom P450 1A2 zu Paracetamol und  $^{13}\text{CO}_2$  metabolisiert. Die Analyse des Atemgases erfolgt über maximal 60 Minuten. Der Test kann zur Beurteilung der individuellen Leberfunktion und bei Patienten mit erhöhten Risiken (nach

Chemotherapie, Leberzirrhose) hinsichtlich des Ausmaßes der Leberschädigung verwendet werden. In Verbindung mit der CT/MRT-Lebervolumetrie kann er vor Leberresektionen zum Einsatz kommen. Außerdem ist eine Aussage über den Erfolg einer Therapie, (postoperativ nach Leberteilresektion oder bei Transplantation) möglich (105).

#### 4.6.1 Nutzung des $^{13}\text{C}$ -KIC-Atemgastests

$^{13}\text{C}$ -KIC und  $^{13}\text{C}$ -Methionin sind die wohl am besten untersuchten  $^{13}\text{C}$ -kohlenstoffmarkierten Substanzen für die Analyse von funktionellen Schäden der Mitochondrien in der Leber (4). In vielen Studien wurde nachgewiesen, dass ein übermäßiger Alkoholkonsum die KIC-Decarboxylierung negativ beeinflusst und die Metabolisierung verzögert (72,88,89). Auch in dieser Studie kann gezeigt werden, dass ein längerer moderater Alkoholkonsum signifikante Auswirkungen auf die Stoffwechsellage von  $^{13}\text{C}$ -KIC hervorruft und eine Aussage zur Stoffwechselleistung auch bei akutem Alkoholeinfluss ermöglicht.

Im klinischen Alltag könnte  $^{13}\text{C}$ -KIC in der Diagnose der Lebersteatose hilfreich sein. In einer Studie von Mion et al 1995 versuchte man mittels des KICA einen Weg zu finden zwischen einer alkoholischen Steatose und einer nicht-alkoholischen Steatose zu unterscheiden. Bei der alkoholischen Steatose erschien eine verminderte mitochondriale Fettsäureoxidation ursächlich zu sein, sodass man neun Patienten mit alkoholischer Steatose, 12 Patienten mit nichtalkoholischer Steatose und 10 gesunde Probanden untersuchte. In den Ergebnissen zeigte sich bei den Patienten mit alkoholischer Steatose eine Abnahme der  $^{13}\text{C}$ -KIC-Decarboxylierung um 42% ab. Bei Patienten mit nicht-alkoholischer Steatose änderte sich jedoch nichts (67).

Des Weiteren wurde herausgefunden, dass die mitochondriale Oxidationskapazität, gemessen mittels  $^{13}\text{C}$ -Methionin-,  $^{13}\text{C}$ -Octansäure und  $^{13}\text{C}$ -KIC-Atemgastests, bei der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) schon in einem frühen Krankheitsstadium gestört sein kann. Durch diese Erkenntnis könnten die genannten  $^{13}\text{C}$ -ATs zur Prävention, zur Verlaufsbeobachtung und zur Behandlung einer NAFLD verwendet werden (106). Es ist möglich den KICA in Verbindung mit dem mikrosomalen  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Atemtest zur Differenzierung der entzündlichen Form der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung zwischen einer nicht-alkoholischen

Steatohepatitis (NASH) und einer einfachen Steatose zu verwenden. Zusätzlich kann das NASH-Stadium besser vorhergesagt werden (59,107).

Dementsprechend hat sich der KICA zur Bewertung der mitochondrialen Leberfunktion schon in vielen Studien bewährt, vor allem bei Patienten mit Alkoholabusus, Reperfusionstörungen der Leber, makrovaskulärer Steatose oder Medikamenten- und Xenobioticaeinnahme (73,74,86).

#### **4.6.2 Nutzung des $^{13}\text{C}$ -Cof-Atemgastests**

$^{13}\text{C}$ -Coffein ist ein ideales Substrat, um die mikrosomale Leberfunktion quantitativ zu messen. Studien von Park, Katelaris et al. (2003, 2005) zeigen, dass der CAT zuverlässig Grade der Leberfunktionsstörung erkennen kann, mit der Plasma-Coffein-Clearance korreliert und ein signifikant umgekehrter Zusammenhang mit dem Child Pugh Score besteht. Auch ein Unterscheiden der Leberschädigung bei Rauchern sei möglich (90). Des Weiteren eigne sich der CAT zur Vorhersage von fortgeschrittenen Leberfibrosen und Zirrhosen bei chronischen Hepatitis B Patienten und erkenne dabei eine Verbesserung unter einer langfristigen Lamivudin-Therapie. Da ein unauffälliges CAT-Ergebnis eine fortgeschrittene Fibrose ausschließt, kann eine Leberbiopsie möglicherweise überflüssig werden, insbesondere bei Patienten mit erhöhtem Eingriffsrisiko. Eine Verlaufsbeobachtung würde dann über den erhobenen  $^{13}\text{CO}_2$ -Coffein-Index erfolgen (91). Beginnende Fibrosen oder einfache Steatosen könne der CAT jedoch nicht indentifizieren und eignet sich eher für die Beurteilung des Schweregrads bei Leberfibrosen, unter anderem auch bei der NAFLD (108). Unter akutem Alkoholeinfluss wie in dieser Studie untersucht, scheint der CAT jedoch weniger gut geeignet zu sein.

Weitere Forschungen haben ergeben, dass es bei extremer Mangelernährung möglich war Hinweise auf eine daraus folgendende verringerte CYP1A2-Aktivität mit Hilfe des CAT darzustellen. Oshikoya et al. (2015) untersuchten die Auswirkungen auf den  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein-Stoffwechsel bei pädiatrischen Patienten mit Marasmus und Kwashiorkor. Es zeigte sich eine deutliche Verringerung des hepatischen Coffein-Stoffwechsels unter den genannten Erkrankungen im Vergleich zu Kindern mit Ernährungserholung (109).

Eine der neuesten Forschungen haben ergeben, dass der CAT auch in der Gendiagnostik eingesetzt werden kann. In der Studie von Ishii et al. (2020) untersuchte man Einzelnukleotid-Polymorphismen, welche mit dem Coffein-Stoffwechsel assoziiert waren und ermöglichte er die Identifizierung eines bestimmten Genotyps (Cytochrom P4501A2: Aryl-Kohlenwasserstoff-Rezeptor (rs4410790)) (110).

## 5 Zusammenfassung

Der Einfluss von Alkohol auf unseren Körper und unsere Gesundheit spielt eine große Rolle in der Wissenschaft und wurde schon in Studien auf unterschiedlichste Weisen erforscht. In dieser Arbeit verwendeten wir Rotwein, um dessen Einfluss auf die Entgiftungsfunktion der Leber zu untersuchen. Rotwein ist in unserer Gesellschaft als Genussmittel beliebt und weit verbreitet. Neben dem enthaltenen Ethanol mit seinen schädlichen Gesichtspunkten, wird dem Wein auch eine gesundheitsfördernde und protektive Wirkung durch Polyphenole und Antioxidantien zugeschrieben.

In dieser Studie wurde mithilfe von nicht-invasiven  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtests die Entgiftungs- und Stoffwechselfunktion der Leber unter Rotweineinfluss dynamisch untersucht. Die Rotweinmenge betrug 3,6 ml/kg KG. Die Probanden tranken somit 188-333 ml Rotwein, was einer täglichen Ethanolosis von 18,8 – 33,3 g entsprach. Es wurden insgesamt 18 gesunde Versuchspersonen rekrutiert, welche keinerlei Medikamente einnahmen und 10 Tage vor und während der Testdurchführung weder Nikotin noch anderen Alkohol konsumierten als den festgelegten Rotwein. Es stellte sich heraus, dass den Freiwilligen diese Einschränkung des Alkoholkonsums bzw. des Alkoholverhaltens am schwersten gefallen sei. Einige Probanden, welche für gewöhnlich wenig Alkohol tranken, klagten ebenfalls darüber, dass die angesetzte Rotweinmenge möglicherweise etwas viel für sie gewesen sei und sie danach leichte Symptome einer beginnenden Alkoholwirkung verspürt hätten.

Um die mitochondriale und mikrosomale Stoffwechselfunktion der Leber bewerten zu können, wurden für die ATs die Tracersubstanzen  $^{13}\text{C}_3$ -Coffein ( $^{13}\text{Cof}$ ) und  $^{13}\text{C}$ -Ketoisocaprinsäure ( $^{13}\text{KIC}$ ) verwendet. Nachdem die Leerwert-Probe des Atems genommen wurde, erfolgte während des standardisierten Abendbrots an den Testtagen die Einnahme des Tracers. In den Untersuchungsergebnissen der vier Testtage erfolgte die Berechnung und grafische Darstellung der Mittelwerte der Probanden für Delta over Baseline (DOB) im Verlauf, die Zeit bis zum Erreichen und die Höhe des DOB-Spitzenwertes und die kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation (kpEx).

In Hinsicht auf den mitochondrialen Stoffwechsel der Leber konnten in dieser Studie signifikante Differenzen zwischen Apfelsaft- und Rotweinkonsum nachgewiesen

werden. Diese zeigten sich insbesondere zu Beginn der Atemgasasservierung von der 30. bis 120. Minute in den DOB-Werten und in der  $k_{pEx}$  ab der 45. Minute. Des Weiteren sahen wir unter  $^{13}KIC$  eine signifikante zeitliche Verzögerung des DOB-Peaks ( $1,65 \pm 1,34$  vs  $2,24 \pm 1,36$  h,  $p = 0,049$ ). Die Ergebnisse untermauern, dass der KICA gut zur Bewertung der mitochondrialen Leberfunktion nach akuten sowie durch moderaten längerfristigen Ethanoleinfluss eingesetzt werden kann. So ist es denkbar, dass die durch den Ethanolabbau gebildeten freien Radikale die Mitochondrien früher schädigend beeinflussen als die schützenden Effekte durch Polyphenole und Antioxidantien des Rotweins. Da die Mitochondrien das entstehende Acetaldehyd metabolisieren, sind sie das primäre Ziel für diese freien Radikale, welche wiederum zu oxidativem Stress führen und die Zellen schädigen. Es scheint somit, dass der mitochondriale Stoffwechsel eher auf einen akuten oder chronischen Alkoholkonsum reagiert als der mikrosomale Stoffwechsel, welcher in dieser Studie durch  $^{13}C_3$ -Coffein untersucht wurde.

Hier fanden sich weniger eindeutige Ergebnisse. In den DOB-Werten konnten signifikante Unterschiede zwischen den nicht-alkoholischen Tagen und Tagen unter Rotweinkonsum von der 45.-90. Minute aufgezeigt werden, sowie bei der  $k_{pEx}$  von der 45. Minute bis zur 3. Stunde, bei  $t = 4$  h und  $t = 4,5$  h. Eine statistische Signifikanz der zeitlichen Verzögerung der DOB-Spitzenwerte von 0,13 h ( $p = 0,715$ ) bestand nicht. Zur mikrosomalen Entgiftungsfunktion der Leber ist zu diskutieren, dass Coffein einerseits über mikrosomale Oxigenasen (CYP1A2) abgebaut wird und andererseits mit Alkohol als gemeinsames Metabolisierungsenzym CYP2E1 aufweist.

Alkohol wird über MEOS und CYP2E1 nur dann metabolisiert, wenn es zu hohen Dosen von Ethanol im menschlichen Körper kommt oder ein chronischer Alkoholabusus besteht. Der  $^{13}Cof$ -Stoffwechsel kann durch die hemmende Wirkung der protektiven Polyphenole (Resveratrol) im Rotwein und durch die induzierende Wirkung des Ethanols auf das Cytochrom P450-System (CYP2E1) beeinflusst werden. Daraus lässt sich vermuten, dass die antioxidativen Eigenschaften des Rotweins zu einer Abschwächung der toxischen Wirkung von Ethanol führen. In dieser Studie wurde eine moderate Dosis Rotwein verwendet, sodass eine vermehrte Verstoffwechslung über CYP2E1 und somit eine gesteigerte kompetitive Interaktion zwischen  $^{13}C_3$ -Coffein und Alkohol eher weniger zu erwarten war.

Vermutlich ist bei den signifikanten Ergebnissen auch die individuelle Stoffwechselleistung der Probanden nicht zu vernachlässigen. Mit durchschnittlich 21,6 g (Frauen) und 29,6 g (Männer) reiner Alkohol pro Tag ist die empfohlene Tagesdosis für Ethanol bereits für Frauen erreicht oder überschritten bzw. für Männer grenzwertig. Deswegen kann es möglich sein, dass es durch die angesetzte Dosis und den längeren Konsum von Rotwein (5 oder 10 Tage) in der vorliegenden Studie zu messbaren Auswirkungen auf die mitochondriale und mikrosomale Leberfunktion (Verbrauch von NAD<sup>+</sup> in den Mitochondrien, Aktivierung des MEOS) gekommen ist. Auffällig war, dass die kpEx unter Rotweinkonsum sowohl nach Gabe von <sup>13</sup>KIC als auch nach Gabe von <sup>13</sup>Cof am Ende der Untersuchungszeit von 6h immer unter dem Vergleichswert von Apfelsaft lag, was die mitochondriale bzw. mikrosomale schädigende Wirkung von Alkohol auf den Leberstoffwechsel signalisiert.

Die Ergebnisse bestätigen die Beeinträchtigung eines moderaten Rotweinkonsums auf die mitochondriale, mikrosomale und zytosolische Entgiftungsfunktion der Leber wie sie in den Vorgängerstudien der Rostocker Rotweinstudie mit anderen Tracersubstanzen wie [<sup>13</sup>C]Methacetin, [<sup>13</sup>C-methyl]Methionin, [<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Aminopyrin und [1-<sup>13</sup>C]Phenylalanin beschrieben wurde (2,3,54).

Um eindeutigere Ergebnisse erzielen zu können, wäre es unter beiden Tracern besser gewesen, die Probandenanzahl zu erhöhen. Zwar wurden in dieser Studie die Daten für einen 5-tägigen und 10-tägigen Apfel- und Rotweinkonsum gemittelt und man konnte daraus gute signifikante Differenzen darlegen aber es bleibt daraus zu diskutieren inwiefern die Probanden in Hinsicht auf ihren individuellen Stoffwechsel und Enzymaktivitäten einen Einfluss auf die Resultate hatten. Eine mögliche Durchführung eines 10-tägigen Rotweinkonsums bei allen 18 Probanden unter je beiden Tracern wäre eine interessante Alternative gewesen, hätte jedoch den gesamten Testablauf deutlich verlängert.

Zusammenfassend lassen sich mit Hilfe von <sup>13</sup>C-ATs verschiedene Leberfunktionsstörungen untersuchen. Darunter zählen mittlerweile die Lebersteatose, die NAFLD, die Leberfibrose und Zirrhose, das hepatozelluläre Karzinom sowie Wirkungen durch Alkohol und Drogen. Einige <sup>13</sup>C-Atemtests sind in der Lage zwischen zirrhatischen Patienten im Anfangsstadium und nicht-zirrhatischen Patienten unterscheiden zu können, sind aber nicht in der Lage frühe Stadien der Leberfibrose zu erfassen (39). Durch den charakteristischen kohlenstoffmarkierten

Tracer können die jeweiligen Stoffwechselprozesse im Zytosol, in den Mitochondrien und in den Mikrosomen der Leber dynamisch beobachtet werden. Leberfunktionstests mit  $^{13}\text{C}$ -markierten Substraten wären von großem Wert für die Zukunft, wenn sie zur prospektiven und prognostischen Bewertung von Lebererkrankungen und deren Interventionen eingesetzt werden könnten und invasive Eingriffe wie beispielsweise Leberbiopsien überflüssig machen würden.

Für weitere Studien und die praxisnahe klinische Anwendbarkeit wäre es empfehlenswert Versuchsprotokolle zu standardisieren und Normalbereiche festzulegen, um die Atemtestergebnisse Zentren übergreifend vergleichbarer zu machen.

Aufgrund der Nicht-Invasivität und der gefahrlosen Verwendung der stabilen Isotope haben die  $^{13}\text{C}$ -ATs großes Potenzial in der Anwendung bei Kindern und Schwangeren. Durch das breite Spektrum, die praktische Transportfähigkeit und deren kostengünstige, einfache Methodik werden  $^{13}\text{C}$ -Atemgastests in der klinischen Medizin in der Zukunft weiteren Einsatz finden.

Die vorliegende Studie, bei der simultan die mitochondriale und mikrosomale Leberfunktion unter einem mehrtägigen moderaten Rotweinkonsum untersucht wurde, stellt in der internationalen Fachliteratur ein Novum dar.

## 6 Thesen

1. Der gesundheitsschädliche Effekt des Ethanolts tritt eher ein als die schützende Wirkung der polyphenolischen Verbindungen.
2. Durch Polyphenole kann bei moderatem Konsum die Toxizität des im Rotwein enthaltenen Ethanolts durch Verminderung des oxidativen Stresses reduziert werden.
3. Mittels  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests kann man effektiv die dynamische Leberfunktion beurteilen. Sie sind nicht invasiv, einfach und unbegrenzt oft replizierbar.
4. Mit der nicht dispersiven Infrarotspektroskopie kann man schnelle nicht- invasive  $^{13}\text{C}$ -Analysen durchführen und diese in einen Klinikalltag einführen.
5. Das exhalierte Kohlendioxid als Stoffwechselendprodukt wird durch enzymatische Hydrolyse-, Oxidations-, und Decarboxylierungs- Reaktionen gebildet.
6. Die Testergebnisse ohne und mit Alkohol können aufgrund einer standardisierten Mahlzeit verglichen werden.
7. Die Resorption der Tracer wird durch eine zeitgleiche Nahrungsaufnahme während der Tracereinnahme verzögert.
8. Die Testdauer von 6 Stunden ist für die endständige Beurteilung der Testergebnisse vergleichsweise kurz bemessen. Eine längere Dauer wird empfohlen um die Annäherung der Kurven an die Baseline besser interpretieren zu können.
9. Zur Beurteilung der mitochondrialen und mikrosomalen Entgiftungsfunktion der Leber sind 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure ( $^{13}\text{KIC}$ ) bzw. [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein ( $^{13}\text{Cof}$ ) als nicht-invasive  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests repräsentative und geeignete Tracersubstanzen.
10. Zwischen dem  $^{13}\text{KIC}$ - und  $^{13}\text{Cof}$ -Atemgastest sollte es aufgrund der geringen Tracermenge und dem Testabstand von 5 Tagen zu keinen Wechselwirkungen der Tracer kommen.

11. Ein moderater Rotweinkonsum von 3,6 ml/kg Körpergewicht hat bei einem 10-tägigen Rotweinkonsum tendenziell einen schädigenden Einfluss auf die Entgiftungsfunktion der Leber.
12. Aufgrund der verschiedenen Zeitspannen des Rotweinkonsums über fünf und zehn Tage sowie die Alkoholmenge von 0,36 g/kg Körpergewicht treten nur geringe Differenzen der erfassten Testergebnisse auf.
13. Die in der Studie vergleichsweise mäßig dosierte Ethanolmenge führt voraussichtlich nicht zu Leberschäden oder zu einer gesättigten Enzymauslastung für  $^{13}\text{KIC}$  und  $^{13}\text{Cof}$ .
14. Die kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation lag unter Rotweinkonsum sowohl nach Gabe von  $^{13}\text{KIC}$  als auch nach Gabe von  $^{13}\text{Cof}$  am Ende der Untersuchungszeit von 6h unter dem Vergleichswert von Apfelsaft, was die mitochondriale bzw. mikrosomale schädigende Wirkung von Alkohol auf den Leberstoffwechsel signalisiert.
15. Während die Differenzen unter  $^{13}\text{KIC}$  mit 4,14% statistisch signifikant waren ( $p = 0,025$ ), waren sie es mit  $^{13}\text{Cof}$  2,62% ( $p = 0,248$ ) nicht. Dennoch zeigen sie die eingeschränkte mitochondriale bzw. mikrosomale Entgiftungskapazität der Leber.
16. Bei  $^{13}\text{KIC}$  beobachteten wir eine signifikant verminderte Leberfunktionsleistung in den DOB-Werten, der kpEx sowie bei der zeitlichen Verzögerung des Maximums unter Rotweineinfluss, sodass die mitochondriale Leberfunktion durch den gesteigerten Abbau von Acetaldehyd und die gleichzeitige Metabolisierung von  $^{13}\text{KIC}$  negativ beeinträchtigt wird.
17. Unter  $^{13}\text{Cof}$  und Rotwein zeigten sich signifikante Differenzen (DOB, kpEx) von der 45.-90. min, während der DOB-Spitzenwert, der kpEx-Endwert sowie die zeitliche Verzögerung des DOB-Maximums nicht signifikant war.
18. Der  $^{13}\text{Cof}$ -Stoffwechsel unter Rotweinkonsum ist abhängig von den antioxidativen Eigenschaften des Rotweins und von der individuellen Metabolisierung von CYP2E1 (MEOS), wodurch der mikrosomale Stoffwechsel weniger beeinträchtigt ist als der mitochondriale.

19. Die vorliegende Studie, bei der simultan die mitochondriale und mikrosomale Leberfunktion unter einem mehrtägigen moderaten Rotweinkonsum untersucht wurde, stellt in der internationalen Fachliteratur ein Novum dar.

## 7 Literaturverzeichnis

- (1) Burger M, Mensink G: Bundes-Gesundheitssurvey. Alkohol. Konsumverhalten in Deutschland, Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes: Robert-Koch-Institut, Berlin 2003
- (2) Wutzke KD, Forberger A, Wigger M: Effect of alcohol consumption on the liver detoxication capacity as measured by [<sup>13</sup>C]methacetin- and [methyl-<sup>13</sup>C]methionine-breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2008;44:219–226
- (3) Wutzke KD, Wigger M: Effect of alcohol consumption on the liver detoxication capacity as measured by [<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]aminopyrine and L-[1-<sup>13</sup>C]phenylalanine breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2009;45:185–191
- (4) Braden B, Lembcke B, Kuker W, Caspary WF: <sup>13</sup>C-breath tests: current state of the art and future directions. *Dig Liver Dis* 2007;39:795–805
- (5) Braden B, Lembcke B, Caspary WF: Nichtinvasive Funktionsdiagnostik aus der Atemluft mit <sup>13</sup>C-Atemtests. *Dtsch Arztebl* 2003;100:3376–3381
- (6) Molina-Molina E, Shanmugam H, Di Palo D, Grattagliano I, Portincasa P: Exploring liver mitochondrial function by <sup>13</sup>C-stable isotope breath tests: implications in clinical biochemistry. *Methods Mol Biol* 2021;2310:179–199
- (7) Teissedre P-L, Stockley C, Boban M, Ruf J-C, Ortiz Alba M, Gambert P, Flesh M: The effects of wine consumption on cardiovascular disease and associated risk factors: a narrative review. *OENO One* 2018;52:67–79
- (8) Klatsky AL: Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today? *J Intern Med* 2015;278:238–250
- (9) Cavallini G, Straniero S, Donati A, Bergamini E: Resveratrol requires red wine polyphenols for optimum antioxidant activity. *J Nutr Health Aging* 2016;20:540–545
- (10) Singleton, VL, Rossi, JA: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 1965;16:144–158

- (11) Schini-Kerth VB, Auger C, Etienne-Selloum N, Chataigneau T: Polyphenol-induced endothelium-dependent relaxations role of NO and EDHF. *Adv Pharmacol* 2010;60:133–175
- (12) Qureshi SA, Lund AC, Veierød MB, Carlsen MH, Blomhoff R, Andersen LF, Ursin G: Food items contributing most to variation in antioxidant intake: a cross-sectional study among Norwegian women. *BMC Public Health* 2014;14:45
- (13) Montsko G, Ohmacht R, Mark L: *Trans*-resveratrol and *trans*-riceid content of Hungarian wines. *Chroma* 2010;71:121–124
- (14) Snopek L, Mlček J, Fic V, Hlaváčová I, Škrovánková S, Fisera M et al.: Interaction of polyphenols and wine antioxidants with its sulfur dioxide preservative. *Potr S J F Sci (Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences)* 2018;12:180–185
- (15) Szabó G: A glass of red wine to improve mitochondrial biogenesis? Novel mechanisms of resveratrol. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:8-9
- (16) Snopek L, Mlcek J, Sochorova L, Baron M, Hlavacova I, Jurikova T et al.: Contribution of red wine consumption to human health protection. *Molecules* 2018;23:1–16
- (17) Elmadhun NY, Sabe AA, Lassaletta AD, Sellke FW: Ethanol promotes new vessel growth in remote nonischemic myocardium. *J Surg Res* 2015;193:536–542
- (18) Toth A, Sandor B, Papp J, Rabai M, Botor D, Horvath Z et al.: Moderate red wine consumption improves hemorheological parameters in healthy volunteers. *Clin Hemorheol Microcirc* 2014;56:13–23
- (19) Platiša MM, Gal V, Nestorović Z, Gojković-Bukarica L: Quantification of the acute effect of a low dose of red wine by nonlinear measures of RR and QT interval series in healthy subjects. *Comput Biol Med* 2014;53:291–296
- (20) Matsumoto C, Miedema MD, Ofman P, Gaziano JM, Sesso HD: An expanding knowledge of the mechanisms and effects of alcohol consumption on cardiovascular disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 2014;34:159–171

- (21) Djoussé L, Lee I-M, Buring JE, Gaziano JM: Alcohol consumption and risk of cardiovascular disease and death in women: potential mediating mechanisms. *Circulation* 2009;120:237–244
- (22) Droste DW, Iliescu C, Vaillant M, Gantenbein M, Bremaeker N de, Lieunard C et al.: A daily glass of red wine associated with lifestyle changes independently improves blood lipids in patients with carotid arteriosclerosis: results from a randomized controlled trial. *Nutr J* 2013;12:147
- (23) Chu LM, Lassaletta AD, Robich MP, Liu Y, Burgess T, Laham RJ et al.: Effects of red wine and vodka on collateral-dependent perfusion and cardiovascular function in hypercholesterolemic swine. *Circulation* 2012;126:65-72
- (24) Vilahur G, Badimon L: Antiplatelet properties of natural products. *Vascul Pharmacol* 2013;59:67–75
- (25) Deutsches Weininstitut GmbH: Wein-Pro-Kopf-Verbrauch unverändert. [Online] 2022. Online verfügbar unter <https://www.deutscheweine.de/presse/pressemitteilungen/details/news/detail/News/wein-pro-kopf-verbrauch-unveraendert/>, zuletzt aktualisiert am 23.11.2022
- (26) Lange C, Manz K, Rommel A, Schienkiewitz A, Mensink GB: Alcohol consumption of adults in Germany: Harmful drinking quantities, consequences and measures. *J Health Monit* 2016;1:2–20
- (27) Burger M, Brönstrup A, Pietrzik K: Derivation of tolerable upper alcohol intake levels in Germany: a systematic review of risks and benefits of moderate alcohol consumption. *Prev Med* 2004;39:111–127
- (28) Seitz, H, Bühringer, G: Empfehlungen des wissenschaftlichen Kuratoriums der DHS zu Grenzwerten für den Konsum alkoholischer Getränke. [Online]. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen (DHS), Hamm 2010
- (29) Mueller S, Seitz HK, Rausch V: Non-invasive diagnosis of alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014;20:14626–14641
- (30) Herold G: Innere Medizin 2017. Eine vorlesungsorientierte Darstellung; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis, Köln 2017,514-516

- (31) Heinrich PC, Müller M, Graeve L: Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie: Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2014,9. Auflage
- (32) Karow T, Lang-Roth R: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis 2019: Thomas Karow, Pulheim 2018,27. Auflage
- (33) Hoekstra LT, Graaf W de, Nibourg GA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, van Gulik TM: Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Ann Surg* 2013;257:27–36
- (34) Tsoris A, Marlar CA: Use of the Child Pugh Score in liver disease. [Online]. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL) 2022
- (35) Schneider AR, Caspary WF, Stein J: <sup>13</sup>C-basierte Atemtests in der Leberfunktionsdiagnostik. *Z Gastroenterol* 2004;42:269–275
- (36) Burra P, Masier A: Dynamic tests to study liver function. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004;8:19–21
- (37) Oellerich M, Armstrong VW: The MEGX test: a tool for the real-time assessment of hepatic function. *Ther Drug Monit* 2001;23:81–92
- (38) Miele L, Marrone G, Cefalo C, D'Achille S, Rapaccini GL, Gasbarrini A, Grieco A: Potential use of liver function breath tests in the clinical practice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17 Suppl 2:82–89
- (39) Modak AS: Stable isotope breath tests in clinical medicine: a review. *J Breath Res* 2007;1:14003
- (40) Dubuc MC, Sébastien H, Brazier JL: <sup>13</sup>C basal abundance of expired CO<sub>2</sub>-definition of pre-requisites for kinetic breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2000;36:177–188
- (41) Schwarz T: Berechnung Alkoholgehalt. Formel. [Online]. Hg. v. Thaiss HM. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung 2020. Online verfügbar unter <https://www.kenn-dein-limit.de/alkohol/haeufige-fragen/wie-berechnet-man-die-alkoholmenge-in-gramm/>, zuletzt aktualisiert am 23.08.2020.000Z
- (42) Gressner AM, Arndt T: Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik: Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2019,3. Auflage

- (43) Stein J, Wehrmann T: Funktionsdiagnostik in der Gastroenterologie: Medizinische Standards: Springer Verlag, Berlin Heidelberg ,2020,219
- (44) Ferré S, O'Brien MC: Alcohol and caffeine: the perfect storm. *J Caffeine Res* 2011;1:153–162
- (45) Adam, O, Forth, W: Coffein. Umgang mit einem Genussmittel, das auch pharmakologische Wirkungen entfalten kann. *Dtsch Arztebl* 2001;98:2816–2818
- (46) Matthaei J, Tzvetkov MV, Strube J, Sehrt D, Sachse-Seeboth C, Hjelmberg JB et al.: Heritability of caffeine metabolism: environmental effects masking genetic effects on CYP1A2 activity but not on NAT2. *Clin Pharmacol Ther* 2016;100:606–616
- (47) Leitzmann P, Heine W, Wutzke KD, Bismarck P von, Dorlöchter L, Miera O et al.: Vergleichende Messungen von Magenentleerung, Blutglukose und oroökaler Transitzeit nach einer konventionellen Morgenmahlzeit und einem Kollath-Frühstück. *Z Ernährungswiss* 1998;37:31–37
- (48) Wutzke KD, Glasenapp B: The use of <sup>13</sup>C-labelled glycosyl ureides for evaluation of oro-caecal transit time. *Eur J Clin Nutr* 2004;58:568–572
- (49) Fischer ANalysen Instrumente GmbH (eds.): FANci2-var: <sup>13</sup>C-Atemgasanalysator. Portfolio. [Online] 2020. Online verfügbar unter <https://fan-gmbh.de/portfolio/fanci2/>, zuletzt aktualisiert am 16.09.2020.000Z
- (50) Brösicke H: Bestimmung der Fettsäureoxidation Frühgeborener mit dem <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Atemtest während kontinuierlicher <sup>13</sup>C-Triolein-Infusion. In: Ahnefeldt FW, Hartig, W, Holm, E, Kleinberger, E, (eds.), *Klinische Ernährung*: Zuckschwerdt Verlag, München 1987, 27
- (51) Radke M, Heine W, Wutzke KD, Leitzmann P, Walther F: Tracer kinetic studies on a methionine-supplemented soy-based infant formula using 1-[<sup>13</sup>C]- and [<sup>15</sup>N]-methionine as tracers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:209–214
- (52) Renaud S, Lorget M de, Delaye J, Guidollet J, Jacquard F, Mamelle N et al.: Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995;61:1360–1367

- (53) Nern S: Der Einfluss des Rauchens und des Koffeinkonsums auf die Entgiftungsfunktion der Leber untersucht mittels eines [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin- und eines [Trimethyl- $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests. Inauguraldissertation. Universitätsmedizin Rostock, Rostock 2016. Online verfügbar unter <https://find.ub.uni-rostock.de/id{colon}1001945786>
- (54) Staar S: Der Einfluss eines kurzzeitigen Rotweingenusses auf die Entgiftungsfunktion der gesunden Leber. Inauguraldissertation. Medizinische Fakultät der Universität Rostock, Rostock 2008. Online verfügbar unter <https://find.ub.uni-rostock.de/id{colon}60890175X>
- (55) Armuzzi A, Marcoccia S, Zocco MA, Lorenzo A de, Grieco A, Tondi P et al.: Non-invasive assessment of human hepatic mitochondrial function through the  $^{13}\text{C}$ -methionine breath test. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:650–653
- (56) Braden B, Caspary WF, Lembcke B: Nondispersive infrared spectrometry for  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -measurements: a clinically feasible analyzer for stable isotope breath tests in gastroenterology. *Z Gastroenterol* 1999;37:477–481
- (57) Adamek RJ, Goetze O, Boedeker C, Pfaffenbach B, Luypaerts A, Geypens B:  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test: isotope-selective nondispersive infrared spectrometry in comparison to isotope ratio mass spectrometry in volunteers and patients with liver cirrhosis. *Z Gastroenterol* 1999;37:1139–1143
- (58) Di Campli C, Angelini G, Armuzzi A, Nardo B, Zocco MA, Candelli M et al.: Quantitative evaluation of liver function by the methionine and aminopyrine breath tests in the early stages of liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:727–732
- (59) Portincasa P, Grattagliano I, Lauterburg BH, Palmieri VO, Palasciano G, Stellaard F: Liver breath tests non-invasively predict higher stages of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Sci (Lond)* 2006;111:135–143
- (60) Duan Y, Li F, Li Y, Tang Y, Kong X, Feng Z et al.: The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino acids* 2016;48:41–51
- (61) Arnaud MJ: Pharmacokinetics and metabolism of natural methylxanthines in animal and man. *Handb Exp Pharmacol* 2011:33–91

- (62) Nehlig A: Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. *Pharmacol Rev* 2018;70:384–411
- (63) Le Marchand L, Sivaraman L, Franke AA, Custer LJ, Wilkens LR, Lau AF, Cooney RV: Predictors of N-acetyltransferase activity: should caffeine phenotyping and NAT2 genotyping be used interchangeably in epidemiological studies? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:449–455
- (64) Božidar Stavrić SG: Caffeine metabolism: A problem in extrapolating results from animal studies to humans. *Acta Pharm Jugosl*;1990, 40:475–489
- (65) Caubet MS, Laplante A, Caillé J, Brazier JL: [<sup>13</sup>C]aminopyrine and [<sup>13</sup>C]caffeine breath test: influence of gender, cigarette smoking and oral contraceptives intake. *Isotopes Environ Health Stud* 2002;38:71–77
- (66) Wutzke KD, Heine WE, Köster D, Muscheites J, Mix M, Mohr C et al.: Metabolic effects of HAY's diet. *Isotopes Environ Health Stud* 2001;37:227–237
- (67) Mion F, Rousseau M, Brazier J-L, Minaire Y: Human hepatic macrovesicular steatosis: a noninvasive study of mitochondrial ketoisocaproic acid decarboxylation. *Metabolism* 1995;44:699–700
- (68) Schoeller DA, Klein PD, Watkins JB, Heim T, MacLean WC: <sup>13</sup>C abundances of nutrients and the effect of variations in <sup>13</sup>C isotopic abundances of test meals formulated for <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath tests. *Am J Clin Nutr* 1980;33:2375–2385
- (69) O'Brien DM: Stable isotope ratios as biomarkers of diet for health research. *Annu Rev Nutr* 2015;35:565–594
- (70) Nakamura K, Schoeller DA, Winkler FJ, Schmidt HL: Geographical variations in the carbon isotope composition of the diet and hair in contemporary man. *Biomed Mass Spectrom* 1982;9:390–394
- (71) Michaletz PA, Cap L, Alpert E, Lauterburg BH: Assessment of mitochondrial function in vivo with a breath test utilizing alpha-ketoisocaproic acid. *Hepatology* 1989;10:829–832
- (72) Lauterburg BH, Grattagliano I, Gmür R, Stalder M, Hildebrand P: Noninvasive assessment of the effect of xenobiotics on mitochondrial function in human beings: studies with acetylsalicylic acid and ethanol with the use of the carbon 13-labeled ketoisocaproate breath test. *J Lab Clin Med* 1995;125:378–383

- (73) Candelli M, Armuzzi A, Miele L, Nista EC, Pignataro G, Zileri Dal Verme L et al.: Gender affects  $^{13}\text{C}$ -ketoisocaproic acid breath test. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2007;11:401–406
- (74) Candelli M, Cazzato IA, Zocco MA, Nista EC, Fini L, Armuzzi A et al.:  $^{13}\text{C}$ -breath tests in the study of mitochondrial liver function. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004;8:23–31
- (75) Reissig CJ, Strain EC, Griffiths RR: Caffeinated energy drinks: a growing problem. *Drug Alcohol Depend* 2009;99:1–10
- (76) Mutschler et al.: *Arzneimittelwirkungen: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart* 2013, 10. Auflage
- (77) Haun HL, Olsen AC, Koch KE, Luderman LN, May CE, Griffin WC: Effect of caffeine on alcohol drinking in mice. *Alcohol* 2021;94:1–8
- (78) Attwood AS, Rogers PJ, Ataya AF, Adams S, Munafò MR: Effects of caffeine on alcohol-related changes in behavioural control and perceived intoxication in light caffeine consumers. *Psychopharmacol* 2012;221:551–560
- (79) Hasenfratz M, Bunge A, Dal Prá G, Bättig K: Antagonistic effects of caffeine and alcohol on mental performance parameters. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;46:463–465
- (80) Azcona O, Barbanoj MJ, Torrent J, Jané F: Evaluation of the central effects of alcohol and caffeine interaction. *Br J Clin Pharmacol* 1995;40:393–400
- (81) Hilbert ML, May CE, Griffin WC: Conditioned reinforcement and locomotor activating effects of caffeine and ethanol combinations in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2013;110:168–173
- (82) Fritz BM, Boehm SL: The effect of prior alcohol consumption on the ataxic response to alcohol in high-alcohol preferring mice. *Alcohol* 2014;48:765–772
- (83) Grattagliano I, Bonfrate L, Oliveira PJ, Castorani L, Ruggiero V, Valenzano AT et al.: Breath tests with novel  $^{13}\text{C}$ -substrates for clinical studies of liver mitochondrial function in health and disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17 Suppl 2:72–81

- (84) Søreide E, Hausken T, Søreide JA, Steen PA: Gastric emptying of a light hospital breakfast. A study using real time ultrasonography. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996;40:549–553
- (85) Schoeller DA, Baker AL, Monroe PS, Krager PS, Schneider JF: Comparison of different methods expressing results of the aminopyrine breath test. *Hepatology* 1982;2:455–462
- (86) Parra D, González A, García-Villarreal L, Martínez JA: Methodological characterization of the 2-keto [1-<sup>13</sup>C]isocaproate breath test to measure in vivo human mitochondrial function: application in alcoholic liver disease assessment. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27:1293–1298
- (87) Lauterburg BH, Liang D, Schwarzenbach FA, Breen KJ: Mitochondrial dysfunction in alcoholic patients as assessed by breath analysis. *Hepatology* 1993;17:418–422
- (88) Witschi A, Mossi S, Meyer B, Junker E, Lauterburg BH: Mitochondrial function reflected by the decarboxylation of [<sup>13</sup>C]ketoisocaproate is impaired in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18:951–955
- (89) Bendtsen P, Hannestad U, Pålsson P: Evaluation of the carbon 13-labeled Ketoisocaproate breath test to assess mitochondrial dysfunction in patients with high alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:1792–1795
- (90) Park GJ-H, Katelaris PH, Jones DB, Seow F, Le Couteur DG, Ngu MC: Validity of the <sup>13</sup>C-caffeine breath test as a noninvasive, quantitative test of liver function. *Hepatology* 2003;38:1227–1236
- (91) Park, GJH, Katelaris, PH, Jones, DB, Seow, F, Lin, BP, Le Couteur, DG, Ngu, MC: The <sup>13</sup>C-caffeine breath test distinguishes significant fibrosis in chronic hepatitis B and reflects response to lamivudine therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:395–403
- (92) Fuhrman B, Lavy A, Aviram M: Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr* 1995;61:549–554

- (93) Micallef M, Lexis L, Lewandowski P: Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans. *Nutr J* 2007;6:27
- (94) Orellana M, Varela N, Guajardo V, Araya J, Rodrigo R: Modulation of rat liver cytochrome P450 activity by prolonged red wine consumption. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002;131:161–166
- (95) Mikstacka R, Baer-Dubowska W, Wieczorek M, Sobiak S: Thiomethylstilbenes as inhibitors of CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 activities. *Mol Nutr Food Res* 2008;52 Suppl 1:77-83
- (96) Piver B, Berthou F, Dreano Y, Lucas D: Inhibition of CYP3A, CYP1A and CYP2E1 activities by resveratrol and other non volatile red wine components. *Toxicol Lett* 2001;125:83–91
- (97) Lieber CS: The discovery of the microsomal ethanol oxidizing system and its physiologic and pathologic role. *Drug Metab Rev* 2004;36:511–529
- (98) Lieber CS: New concepts of the pathogenesis of alcoholic liver disease lead to novel treatments. *Curr Gastroenterol Rep* 2004;6:60–65
- (99) Lieber CS: Alcohol and the liver: metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases. *Mt Sinai J Med* 2000;67:84–94
- (100) Henderson GI, Schenker S: Effects of age, sex, and cimetidine on acute ethanol-induced inhibition of the hepatic monooxygenase systems. *Alcohol Clin Exp Res* 1986;10:259–265
- (101) Nista EC, Fini L, Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Cazzato IA et al.: <sup>13</sup>C-breath tests in the study of microsomal liver function. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004;8:33–46
- (102) Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Osborn J, Perna F, Bernabucci V, Vaira D: Accuracy of breath tests using low doses of <sup>13</sup>C-urea to diagnose *Helicobacter pylori* infection: a randomised controlled trial. *Gut* 2006;55:457–462
- (103) Graham DY, Malaty HM, Cole RA, Martin RF, Klein PD: Simplified <sup>13</sup>C-urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1741–1745

- (104) Maes BD, Geypens BJ, Ghooos YF, Hiele MI, Rutgeerts PJ:  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test for gastric emptying rate of solids. *Gastroenterology* 1998;114:856–857
- (105) Jara M, Bednarsch J, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, Seehofer D, Stockmann M: Der LiMAx-Test: ein neuer diagnostischer Test zur Messung der aktuellen Leberfunktionskapazität. *Dtsch Med Wochenschr* 2014;139:387–391
- (106) Di Ciaula A, Calamita G, Shanmugam H, Khalil M, Bonfrate L, Wang DQ-H et al.: Mitochondria matter: systemic aspects of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic assessment of liver function by stable isotope dynamic breath tests. *Int J Mol Sci* 2021;22:7702
- (107) Schneider AR, Kraut C, Lindenthal B, Braden B, Caspary WF, Stein J: Total body metabolism of  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid is preserved in patients with non-alcoholic steatohepatitis, but differs between women and men. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:1181–1184
- (108) Park GJ-H, Wiseman E, George J, Katelaris PH, Seow F, Fung C, Ngu MC: Non-invasive estimation of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease using the  $^{13}\text{C}$ -caffeine breath test. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26:1411–1416
- (109) Oshikoya KA, Smith K, Sammons H, Choonara I: Decreased metabolism of  $^{13}\text{C}$ -caffeine via hepatic CYP1A2 in marasmus and kwashiorkor based on breath test. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2015;26:105–113
- (110) Ishii M, Ishii Y, Nakayama T, Takahashi Y, Asai S:  $^{13}\text{C}$ -caffeine breath test identifies single nucleotide polymorphisms associated with caffeine metabolism. *Drug Metab Pharmacokinet* 2020;35:321–328

## 8 Abkürzungsverzeichnis

ADH	Alkoholdehydrogenase
ALAT	Alanin- Aminotransferase
ALE	alkoholische Lebererkrankung
ALZ	alkoholische Leberzirrhose
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ASH	alkoholischen Steatohepatitis
BMI	Body Mass Index
<sup>13</sup> C-AT	<sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Atemgastest
CAT	<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -Coffein-Atemgastest
<sup>13</sup> Cof	[N-1,3,7-Trimethyl- <sup>13</sup> C]coffein
%Cof	kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation von <sup>13</sup> Cof
CT	Computertomographie
d	Tag
ERCP	endoskopische retrograde Cholangiopankretikographie
γ-GT	Glutamyl-Transferase
g	Gramm
GLDH	Glutamatdehydrogenase
h	Stunde
HCC	hepatozelluläres Karzinom
HDL	High-Density-Lipoprotein
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
<sup>13</sup> KIC	2-Keto[1- <sup>13</sup> C]isocapronsäure
%KIC	kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation von <sup>13</sup> KIC
KICA	<sup>13</sup> C-Ketoisocapronsäure-Atemgastest
KG	Körpergewicht
KL	Körperlänge
KOF	Körperoberfläche
kpEx	kumulative prozentuale <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> -Exhalation
l	Liter
LDL	Low-Density-Lipoprotein

MEGX-Test	Monoethylglycinxylylidid-Test
MRT	Magnetresonanztomographie
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinukleotid, oxidierte Form
NADH+H <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinukleotid, reduzierte Form
NAFLD	nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung
NASH	nicht-alkoholische Steatohepatitis
NDIR	nicht dispersive Infrarotspektroskopie
NO <sup>+</sup>	Stickstoffmonoxid
RW	Rotwein
s	Standardabweichung
Sig.	Signifikanz
t	Zeit
Vol.-%	Volumenprozent
vs.	versus

## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Darstellung der verschiedenen Abbauwege von Ethanol und mögliche gesundheitsschädliche Auswirkungen .....	9
<b>Abbildung 2:</b> Strukturformel von $^{13}\text{C}$ -Ketoisocapronsäure .....	19
<b>Abbildung 3:</b> Strukturformel von L-Leucin.....	19
<b>Abbildung 4:</b> Strukturformel von [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein ( $^{13}\text{Cof}$ ) .....	20
<b>Abbildung 5:</b> Schema des Versuchsablaufs mit alternierendem Muster der Tracereinnahme .....	21
<b>Abbildung 6:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Kurve nach Gabe von $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol.....	26
<b>Abbildung 7:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Kurve nach Gabe von $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol.....	26
<b>Abbildung 8:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol.....	28
<b>Abbildung 9:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol aufgeteilt nach 5 und 10 Tagen.....	28
<b>Abbildung 10:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol.....	29
<b>Abbildung 11:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Spitzenwerte nach Gabe von $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol aufgeteilt nach 5 und 10 Tagen.....	30
<b>Abbildung 12:</b> Darstellung der durchschnittlichen Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks, gemessen nach Gabe des $^{13}\text{KIC}$ -Tracers .....	31
<b>Abbildung 13:</b> Darstellung der durchschnittlichen Zeit bis zum Erreichen des DOB-Peaks, gemessen nach Gabe des $^{13}\text{Cof}$ -Tracers .....	31
<b>Abbildung 14:</b> Gemittelte Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach Gabe von $^{13}\text{KIC}$ -Tracer ohne und mit Alkohol (5 und 10 Tage zusammengefasst).....	33
<b>Abbildung 15:</b> Gemittelte Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach Gabe von $^{13}\text{Cof}$ -Tracer ohne und mit Alkohol (5 und 10 Tage zusammengefasst) .....	33
<b>Abbildung 16:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure-Gabe 5 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss.....	35
<b>Abbildung 17:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach 2-Keto[1- $^{13}\text{C}$ ]isocapronsäure-Gabe 10 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss.....	35

<b>Abbildung 18:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe 5 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss .....	37
<b>Abbildung 19:</b> $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach [N-1,3,7-Trimethyl- $^{13}\text{C}$ ]coffein-Gabe 10 Tage ohne und mit Alkoholeinfluss .....	37
<b>Abbildung 20:</b> Gemittelte $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach $^{13}\text{KIC}$ -Gabe ohne und mit Alkoholeinfluss (5 und 10 Tage zusammengefasst) .....	40
<b>Abbildung 21:</b> Gemittelte $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach $^{13}\text{Cof}$ -Gabe ohne und mit Alkoholeinfluss (5 und 10 Tage zusammengefasst) .....	41

## 10 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Zusammenfassung empfohlener Dosen von Rotwein oder anderem Alkohol und deren positive Auswirkungen auf die Gesundheit.....	4
<b>Tabelle 2:</b> Darstellung von möglichen $^{13}\text{C}$ -Tracersubstanzen, deren Metabolisierungsenzyme und Lokalisation in der Leber (38).....	14
<b>Tabelle 3:</b> Darstellung der erhobenen Probandendaten .....	17
<b>Tabelle 4:</b> Berechnete Mittelwerte (5 und 10 Tage zusammengefasst) der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kpEx von $^{13}\text{KIC}$ im Vergleich ohne und mit Rotweinkonsum (RW) mit Standardabweichungen (s) und statistischen Signifikanzen (Sig.) .....	39
<b>Tabelle 5:</b> Berechnete Mittelwerte (5 und 10 Tage zusammengefasst) der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kpEx von $^{13}\text{Cof}$ im Vergleich ohne und mit Rotweinkonsum (RW) mit Standardabweichungen (s) und statistischen Signifikanzen (Sig) .....	40
<b>Tabelle 6:</b> Substrate, Induktoren und Inhibitoren von Isoenzym CYP1A2.....	47
<b>Tabelle 7:</b> Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter $^{13}\text{KIC}$ mit und ohne Alkohol .....	53
<b>Tabelle 8:</b> Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter $^{13}\text{C}_3$ -Coffein mit und ohne Alkohol .....	57

## 11 Anhang

### 11.1 Probandeninformation

#### Probandeninformation

10 Tage Apfelsaft bzw. 10 Tage Wein

#### Nicht-Testtag

- Immer zwischen 17:00-18:00Uhr trinken
- Immer zwischen 17:00-18:00Uhr Abendbrot essen
- **Trinkmenge konstant** halten: am Abend nach Apfelsaft/Wein nur ungesüßten Tee oder Wasser)

#### Testtag

Nur an 4 Tagen der 20-tägigen Studie muss ein Tracer mit standardisiertem Abendbrot eingenommen und 17 Atemtestbeutel beatmet werden.

- Ab **14:00 Uhr** nichts mehr essen, außer dem standardisierten Abendbrot
- **16:45-23:00 Uhr** Atemgas sammeln
- **16:45 Uhr** Leerwert pusten
- **17:00 Uhr** Tracer einnehmen
- **17:00-17:15 Uhr** Apfelsaft/Wein trinken
- **17:00-17:30 Uhr** Abendbrot:
  - **3 Weißbrötchenhälften**
  - Je **1 Scheibe Käse** (Gouda) und je **1 Scheibe Kochschinken** (bei dünnen Scheiben 2 Stk.)
  - **1 halben Apfel** oder **1 halbe Birne**
  - Tracer auf eine Ecke des Brötchens streuen, nicht in den Apfelsaft/Wein geben

#### Richtiges Beatmen der Atemtestbeutel

- Testbeutel in die Hand nehmen und Stöpsel abnehmen,
- Atemröhrchen in Testbeutel stecken
- Tief einatmen, Luft für 5 s anhalten
- Mindestens die Hälfte der Luft ausatmen
- Die Restluft in Testbeutel atmen
- Gummischlauch am Testbeutel zudrücken
- Stöpsel wieder aufstecken

## 11.2 Atemtestprotokoll (6-Stunden-Version)

### Atemtestprotokoll

Doktorandin Anne-Kathrin Neururer

Name, Vorname:	Testdatum:
Geburtsdatum:	
Körpergewicht [kg]:	Körperoberfläche [m <sup>2</sup> ]:
Körpergröße [cm]:	
<b>Tracergabe</b>	
[ <sup>13</sup> C <sub>3</sub> ]-Caffeine (1 mg/kg)	.....
[1- <sup>13</sup> C]-Ketoisocaprionsäure (2 mg/kg)	.....
L-Leucin unmarkiert (20 mg/kg)	.....
ohne Alkohol <input type="checkbox"/>	mit Alkohol <input type="checkbox"/>
Tag 5 <input type="checkbox"/> Tag 10 <input type="checkbox"/>	Tag 15 <input type="checkbox"/> Tag 20 <input type="checkbox"/>

Atemtestbeutel-Nr.	Zeit der Probennahme	Ist-Zeit der Probennahme <i>(Angaben nur bei Abweichungen &gt; 5 min von der Soll-Zeit)</i>
<b>Leerwert</b>	vor Tracereinnahme um <b>16:45 Uhr</b> beatmen	
	während des Abendessens um 17 Uhr Tracergabe	
01	17:15	
02	17:30	
03	17:45	
04	18:00	
05	18:15	
06	18:30	
07	18:45	
08	19:00	
09	19:30	
10	20:00	
11	20:30	
12	21:00	
13	21:30	
14	22:00	
15	22:30	
16	23:00	

## **Selbstständigkeitserklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst und andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht verwendet habe. Die den benutzten Werken wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen habe ich als solche kenntlich gemacht.

Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Ich versichere, dass die vorliegende Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zwecke einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde.

Rostock, den

---

Anne-Kathrin Neururer

## Lebenslauf

Online nicht veröffentlicht.

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen und Institutionen danken, die am Zustandekommen dieser Dissertation beteiligt waren und ohne deren Hilfe sie nicht zustande gekommen wäre.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. K.D. Wutzke für die Bereitstellung des Themas und die gute Betreuung.

Ich bedanke mich ebenfalls bei der Mitarbeiterin des Forschungslabors Frau Salewski, welche mir stets bei der Messung der Atemgasproben zur Seite stand.

Des Weiteren danke ich meinen Freunden, Kommilitonen und Freiwilligen, die als Probanden diese Studie mitgetragen haben.

Abschließend möchte ich mich bei meinem Lebensgefährten Tony Gärtner, meiner Freundin Katharina Springstein und meiner Mutter Andrea Neururer für die Korrekturlesung des Manuskriptes, für die unaufhaltsame motivierende Unterstützung und für die vielen Ratschläge bedanken, die besonders zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.