

Aus dem Medizinischen Labor Prof. Schenk / Dr. Ansorge & Kollegen

**Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft
im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt auf der
Basis Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät der
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Jakob Adler

aus Zittau

Magdeburg, den 2021

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung

Adler, Jakob:

Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt auf der Basis Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker. - 2021. - 60 Bl., 10 Abb., 7 Tab.

Kurzreferat/Abstract

Alkohol ist ein in unserer westlichen Gesellschaft breit akzeptiertes Konsumgut. Verschiedene Studien haben versucht, die Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft unter Nutzung von Fragebögen zu erfassen, wobei aufgrund der gesellschaftlichen Stigmatisierung von einer potenziellen Unterschätzung der Prävalenz in diesen Arbeiten auszugehen ist. Das Ziel dieser Studie ist die Berechnung der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums (mehr als 40 g Ethanol pro Tag) unter der Nutzung verschiedener Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker (CDT und %CDT, GGT, MCV sowie dem kombinierten Biomarker GGT-CDT). Die Datengrundlage bilden die Messungen dieser Biomarker bei 2.182 schwangeren sowie 743 bezüglich der Altersstruktur vergleichbaren, nicht-schwangeren Frauen. Es wird gezeigt, dass die errechneten Prävalenzen stark von den genutzten Biomarkern und den jeweils gewählten Cut-offs abhängen. Die Prävalenz mindestens eines erhöht gemessenen Biomarkers, der einen Hinweis auf einen schädlichen Alkoholkonsum gibt, beträgt in der Gruppe der Schwangeren 13,8 % (95%-KI: 12,4–15,2) und in der Gruppe der Nicht-Schwangeren 18,6 % (95%-KI: 15,8–21,4). 85 % dieser schwangeren Frauen zeigen ein isoliert erhöhtes %CDT. Nutzt man alleinig den nach aktueller Literatur spezifischsten Parameter GGT-CDT, so ergibt sich eine Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft von 0,5 % (95%-KI: 0,2–0,7).

Schlüsselwörter

Alkohol, Schwangerschaft, Prävalenz, Biomarker, Carbohydrat-defizientes Transferrin, CDT, %CDT, Gamma-Glutamyl-Transferase, GGT, GGT-CDT, Fetales Alkoholsyndrom, FAS, Fetale Alkoholspektrumstörung, FASD

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	- 3 -
2	Abkürzungsverzeichnis	- 5 -
3	Einführung	- 7 -
3.1	Alkoholkonsum in Deutschland	- 7 -
3.2	FASD und FAS	- 8 -
3.3	Pathophysiologie der FASD/des FAS	- 9 -
3.4	Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft sowie der FASD/des FAS	- 10 -
3.5	Risikofaktoren des mütterlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft	- 12 -
3.6	Alkoholkonsum-assoziierte Biomarker	- 13 -
3.6.1	Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT und %CDT)	- 14 -
3.6.2	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	- 18 -
3.6.3	Der kombinierte Biomarker GGT-CDT	- 19 -
3.6.4	Mittleres korpuskuläres Volumen (MCV)	- 19 -
3.7	Zielsetzung der Arbeit	- 20 -
4	Material und Methoden	- 21 -
4.1	Studiendesign	- 21 -
4.1.1	Retrospektiver Anteil der Studie	- 21 -
4.1.2	Prospektiver Anteil der Studie	- 22 -
4.1.3	Inhalt des Ethikvotums	- 22 -
4.2	Herkunft und Auswahl der Proben	- 23 -
4.2.1	Schwangere Frauen	- 23 -
4.2.2	Nicht-schwangere Frauen	- 24 -
4.2.3	Altersstruktur der Frauen	- 25 -
4.3	Messmethoden der Biomarker	- 27 -
4.3.1	CDT und %CDT	- 27 -
4.3.2	GGT	- 27 -
4.3.3	GGT-CDT	- 28 -
4.3.4	MCV	- 28 -
4.3.5	Abschließende Anzahl der Proben	- 28 -
4.4	Auswahl der Cut-offs	- 30 -
4.4.1	%CDT	- 30 -
4.4.2	GGT	- 30 -
4.4.3	GGT-CDT	- 31 -
4.5	Statistische Analyse	- 31 -
5	Ergebnisse	- 32 -

5.1	Ausprägung der Biomarker zwischen schwangeren und nicht-schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt.....	- 32 -
5.2	Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums bei schwangeren und nicht schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt.....	- 33 -
5.3	Aufschlüsselung der aufgetretenen Konstellationen mindestens eines erhöht gemessenen Biomarkers bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt	- 34 -
5.4	Trimester-spezifische Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums und Trimester-spezifische Veränderungen der Biomarker bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt	- 35 -
5.5	Veränderung des CDT im Verlauf der Schwangerschaft	- 40 -
5.6	Veränderung des %CDT im Verlauf bei Schwangeren mit initial auffälligen Messwerten.....	- 41 -
6	Diskussion.....	- 42 -
6.1	Möglichkeiten und Grenzen des zugrunde liegenden Studiendesigns	- 42 -
6.2	Vergleich der kombinierten Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft mit Publikationen basierend auf Fragebögen.....	- 43 -
6.3	Vergleich der kombinierten Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft mit Publikationen basierend auf Messungen von Biomarkern	- 44 -
6.4	Vergleich der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft basierend auf erhöhten GGT-CDT-Werten mit den Zahlen des Fehlbildungsmonitorings Sachsen-Anhalt sowie Zahlen für Deutschland	- 45 -
6.5	Physiologischer Anstieg des CDT sowie unzureichende Korrektur durch das %CDT	- 46 -
6.6	Aussagekraft der longitudinalen Messungen.....	- 47 -
7	Zusammenfassung.....	- 48 -
8	Literaturverzeichnis.....	- 49 -
9	Abbildungsverzeichnis.....	- 54 -
10	Tabellenverzeichnis	- 55 -
11	Danksagung	- 56 -
12	Ehrenerklärung.....	- 57 -
13	Erklärung zur strafrechtlichen Verurteilung.....	- 58 -
14	Curriculum Vitae.....	- 59 -
15	Originalpublikation	- 60 -

2 Abkürzungsverzeichnis

95%-KI	95%-Konfidenzintervall
ALT/ALAT	Alanin-Aminotransferase (= Glutamat-Pyruvat-Transaminase)
AST/ASAT	Aspartat-Aminotransferase (= Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)
AUDIT	Alcohol Use Disorders Identification Test
CDT	Carbohydrat-defizientes Transferrin
%CDT	Prozentsatz des Carbohydrat-defizienten Transferrins am Gesamt-Transferrin
CRBP	Cellular retinol binding protein
DNA	Deoxyribonucleic acid (DNS, Desoxyribonukleinsäure)
ESA	Epidemiologischer Suchtsurvey
FAS	Fetales Alkohol-Syndrom
FASD	Fetale Alkoholspektrumstörung
fl	Femtoliter
GEDA	Gesundheit in Deutschland aktuell (Studie des Robert-Koch-Institutes)
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GGT-CDT	Kombinierter Parameter aus GGT und CDT
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (= Aspartat-Aminotransferase)
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (= Alanin-Aminotransferase)
HPLC	High-Pressure-Liquid-Chromatography
KiGGS	Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland
ln()	natürlicher Logarithmus, Logarithmus mit der Basis e (Eulersche Zahl)
MCV	Mittleres zelluläres Volumen (der Erythrozyten)
mg/l	Milligramm pro Liter
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease, Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung
NASH	Non-alcoholic steatohepatitis, Nicht-alkoholische Steatohepatitis
nm	Nanometer
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RAR	Retinoic acid receptor
RNA	Ribonucleic acid (RNS, Ribonukleinsäure)
ROC	Receiver Operating Characteristic
RKI	Robert-Koch-Institut
SD	Standardabweichung

Sens.	Sensitivität
Spez.	Spezifität
TNF- α	Tumornekrosefaktor Alpha
U/l	Units pro Liter
VEGFR2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (CD309)

3 Einführung

3.1 Alkoholkonsum in Deutschland

Der Konsum von Alkohol ist in den westlichen Ländern weithin akzeptiert. In Deutschland bemisst sich der jährliche Pro-Kopf-Konsum auf 10,7 Liter Rein-Alkohol (Ethanol), sodass Deutschland im internationalen Vergleich zu den Hochkonsumländern gezählt wird (Atzendorf et al., 2019). Im Rahmen des epidemiologischen Suchtsurveys (ESA) wurden Personen im Alter von 18 bis 64 Jahren aus dem deutschsprachigen Raum mithilfe von internetbasierten Fragebögen und telefonischen Interviews zu ihren Trinkgewohnheiten befragt. In den letzten 30 Tagen vor Befragung zeigte sich eine Alkohol-Konsumprävalenz von 71,6 %, was in der Hochrechnung auf die Gesamtbevölkerung einer Zahl von 39,6 Millionen Alkohol-konsumierenden Erwachsenen in Deutschland entspräche.

Frauen zeigten dabei eine Konsumprävalenz von 66,5 % (Anzahl der Befragten n = 3.563). 24,6 % der Frauen gaben episodisches Rauschtrinken (fünf oder mehr alkoholische Getränke an mindestens einem Tag) und weitere 19,7 % den Konsum riskanter Alkohol-Mengen (durchschnittlich mehr als 12 g Rein-Alkohol pro Tag) in den letzten 30 Tagen vor Befragung an (Atzendorf et al., 2019).

Die Alkohol-bedingte Mortalität ist in den vergangenen Jahren in Deutschland zurückgegangen. 2012 konnten 21.000 Todesfälle von Personen im Alter von 15 bis 64 Jahren entweder ausschließlich auf Alkoholkonsum oder auf Erkrankungen, bei denen Alkoholkonsum als Risikofaktor identifiziert wurde, zurückgeführt werden. Dies entspricht 2,3 % aller Todesfälle im Jahr 2012. Hierbei zeigt Sachsen-Anhalt im deutschlandweiten Vergleich mit 65,8 Todesfällen pro 100.000 Einwohner bei den Männern die höchste, sowie mit 12,6 Todesfällen pro 100.000 Einwohnern bei den Frauen die zweithöchste Zahl (Schaller et al., 2017).

Zu den Erkrankungen, für die Alkohol als Risikofaktor bekannt ist, gehören nicht nur die Leberzirrhose, das hepatozelluläre Karzinom oder die akute und chronische Pankreatitis (GDB 2016 Risk Factors Collaborators, 2017), sondern bei Alkoholkonsum der Mutter während der Schwangerschaft auch die Fetale Alkoholspektrumstörung („fetal alcohol spectrum disorder“, FASD) sowie deren vollausgeprägte Variante, das Fetale Alkohol-Syndrom („fetal alcohol syndrome“, FAS) (Kraus et al., 2019). Dieses Thema beschäftigt nicht nur die wissenschaftliche Welt, sondern ist regelmäßig Thema politischer Diskussionen (zum Beispiel die Anfrage der Fraktion DIE LINKE „Schädigung von Föten durch Alkoholkonsum

während der Schwangerschaft“ an die Bundesregierung, Drucksache 18/3206) und findet seinen Weg auch in die Printmedien (zum Beispiel Zeitungs-Artikel „Dass ich ganz alleine daran die Schuld trage“ von Jean Boué, Die Zeit No. 37, Rubrik Wissen, 06.09.2018).

3.2 FASD und FAS

Die Fetale Alkoholspektrumstörung (FASD) umfasst die Gesamtheit der durch Alkoholkonsum in der Schwangerschaft ausgelösten Pathologien des Embryos bzw. des Fetus bzw. des Kindes. Hierbei können verschiedene Abstufungen vorgenommen werden: Die FASD reicht dabei von Alkohol-bedingten Geburtsschäden („alcohol-related birth defects“, ARBD) und Alkohol-bedingten entwicklungsneurologischen Störungen („alcohol-related neurodevelopmental disorder“, ARND) über das partielle Fetale Alkoholsyndrom („partial fetal alcohol syndrome“, pFAS) bis hin zum Fetalen Alkohol-Syndrom (FAS). Hierbei stellt das FAS das Vollbild einer Alkohol-bedingten Gesundheitsstörung dar (Landgraf et al., 2016). Prinzipiell kann je nach Zeitpunkt und Ausmaß des Alkoholkonsums der Mutter jedes Organsystem von schädigenden Einflüssen des Alkohols und dessen Abbauprodukten betroffen sein. Dementsprechend vielfältig gestalten sich die Symptome und Störungsbilder der betroffenen Neugeborenen und Kinder. Neben einem geringen Geburtsgewicht, verzögertem Wachstum und Fehlbildungen, zum Beispiel des Gesichtes, der Extremitäten oder des Herzens, zeigen betroffene Kinder auch Schädigungen des Zentralnervensystems wie Intelligenzminderung, Epilepsien oder auch Verhaltensstörungen wie Hyperaktivität oder soziale Reifestörungen (Schaller et al., 2017). Neben Schädigungen, die direkt bei Geburt ersichtlich sind, können sich Symptome und Einschränkungen der Betroffenen auch erst im weiteren Verlauf der Kindheit oder der Adoleszenz herausbilden. Letztendlich kann der Alkoholkonsum der Mutter während der Schwangerschaft auch bis ins Erwachsenenalter der Betroffenen hineinwirken und zu psychiatrischen Störungen, Alkohol- und Drogenproblemen sowie Arbeitslosigkeit führen (Schaller et al., 2017).

3.3 Pathophysiologie der FASD/des FAS

Die Pathophysiologie der Entstehung der FASD bzw. des FAS sind bis heute nicht abschließend geklärt. Eine wesentliche Schwierigkeit in der Untersuchung der Mechanismen dieser Erkrankungen ist die enorm unterschiedliche Ausprägung der Gesundheitsstörungen. Bisher kann nicht vorhergesagt werden, ob und welche Störungen bei Alkoholkonsum in der Schwangerschaft auftreten sowie ab welcher Menge an konsumiertem Alkohol diese Störungen auftreten. Trotzdem konnten bereits einige Mechanismen wie ein vermehrter Zelltod, Einflüsse auf den Zellzyklus, die Zellproliferation, die Zellmigration, die Zellmorphogenese sowie Veränderungen der Genexpression vor allem im Bereich der Neuroteratogenität als Auswirkung von Alkohol (Ethanol) und seines ebenfalls teratogenen Stoffwechselproduktes Acetaldehyd identifiziert werden (Sulik, 2014).

Als weiterer Mechanismus wurde die kompetitive Hemmung der Alkohol- und Aldehyd-Dehydrogenase durch Ethanol und Acetaldehyd und der damit reduzierten Aktivität dieser Enzyme bei der Oxidation von Retinal zu Retinsäure ins Gespräch gebracht (Pullarkat, 1991). Retinsäure ist ein wesentlicher Baustein einer normalen Entwicklung des Fetus und ein Mangel an Retinsäure kann zu angeborenen Fehlbildungen führen (Rhinn M et al., 2012). Dass Alkoholkonsum zu einer Dysregulation der Retinsäure-Rezeptoren (RAR, retinoic acid receptor) sowie des zellulären Retinol-bindenden Proteins (CRBP, cellular retinol binding protein) in verschiedenen Organsysteme führen kann, konnte 1998 bewiesen werden (Zachman RD et al., 1998). Weitere Forschung zeigte, dass Ethanol durch diesen Mechanismus die Expression des „Sonic-Hedgehog“-Gens reduziert, das ein Schlüssel-Gen der Kontrolle der embryonalen und fetalen Entwicklung darstellt (Johnson et al., 2007).

Eine weitere wichtige Rolle spielt die Entstehung von reaktiven Sauerstoff-Spezies. Bathia et al. publizierten 2019 zur Rolle des oxidativen Stresses und dem nachfolgenden Schaden an Proteinen und der DNA in der Pathogenese der FASD ein umfangreiches Review (Bathia et al., 2019). Wird Ethanol aufgenommen, so wird dieses über verschiedene Enzyme metabolisiert, wobei reaktive Sauerstoff-Spezies wie Superoxid-Anionen, Wasserstoffperoxid und Hydroxyl-Radikale entstehen. Diese wirken sich wiederum auf die Signal-Transduktion von Proteinen wie dem „Phosphatase and tensin homolog“ (PTEN), Glutathion und Thioredoxin aus, die zu vermehrtem Zelltod und Veränderungen der Zelldifferenzierung, Zellmigration, Zellfunktion und Zellkommunikation führen können. Neben dem Einfluss auf die Signal-Transduktion können diese reaktiven Sauerstoff-Spezies auch zu direkter

Schädigung von Lipiden, Proteinen und der DNA führen. Dieser „macromolecular oxidative damage“ führt zur Modifikation der DNA, RNA und der Histone durch Prozesse wie Methylierung und Acetylierung, die sich in einer Veränderung der Genexpression niederschlagen können. Letztendlich können die Schäden an der DNA auch zu Mutationen führen, die prinzipiell in der Lage sind, ein transplazentares malignes Zellwachstum auszulösen (Bathia et al., 2019).

Neben den bisher dargestellten Mechanismen der Pathophysiologie der FASD und des FAS werden immer neue Mechanismen wie Einflüsse auf den Snai2/p53-Regelkreis, eine verminderte Expression von VEGFR2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2, CD309) und Annexin-A4 oder die verstärkte Ausschüttung von Zytokinen wie Tumornekrosefaktor Alpha (TNF- α) oder Interleukin-13 beschrieben (Parnell et al., 2019). Zusammenfassend zeigt sich ein äußerst komplexes Bild der Pathophysiologie der FASD bzw. des FAS, das durch eine Vielzahl von bisher vollständig oder teilweise aufgeklärten und vielen wahrscheinlich noch unaufgeklärten Mechanismen bestimmt ist.

3.4 Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft sowie der FASD/des FAS

Die genaue Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft ist nach wie vor unbekannt. In der Vergangenheit wurden verschiedene Studien zur Schätzung der Prävalenz publiziert. Hierbei wurde methodisch entweder auf Fragebögen, auf körperliche Untersuchungen zur Feststellung typischer Pathologien oder auf die Messung von Biomarkern, die mit Alkoholkonsum assoziiert sind, zurückgegriffen.

Popova et al. schätzten in einer großen Meta-Analyse, die vorrangig auf Studien unter Nutzung von Fragebögen basierte, die globale Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft auf 9,8 % (95%-KI: 8,9–11,1). Hierbei belief sich die Schätzung für den europäischen Kontinent auf 25,2 % (95%-KI: 21,6–29,6). Die Prävalenz des FAS wurde von dieser Arbeit auf 14,6 pro 10.000 Personen weltweit (95%-KI: 9,4–23,3) bzw. auf 37,4 pro 10.000 Personen (95%-KI: 24,7–54,2) für Europa geschätzt (Popova et al., 2017). Eine weitere systematische Übersichtsarbeit schätzte eine globale Prävalenz der FASD von 77 pro 10.000 Personen weltweit, sowie von 198 pro 10.000 Personen für Europa (Lange et al., 2017). Unter Nutzung eines Standardfragebogens zur Erfassung des Alkoholkonsums, dem AUDIT-Fragebogen (Alcohol Use Disorders Identification Test), wurde in einer schwedischen Arbeit

eine Prävalenz des riskanten Alkoholkonsums in der Schwangerschaft von 17 % errechnet (Göransson et al., 2003).

Für Deutschland existieren Daten aus der „Gesundheit in Deutschland aktuell“-Studie (GEDA-Studie) des Robert-Koch-Institutes. Hier wird unter Auswertung des AUDIT-Fragebogens eine Prävalenz des moderaten Alkoholkonsums in der Schwangerschaft von 19,8 % (95%-KI: 15,6–24,7) angegeben. Zusätzlich gaben 7,8 % (95%-KI: 4,7–12,6) der schwangeren Frauen an, riskante Mengen an Alkohol zu konsumieren. Bezüglich des „Binge-Drinkings“ (mehr als sechs Getränke pro Gelegenheit, Rauschtrinken) gaben 12,1 % (95%-KI: 8,4–17,0) der Schwangeren eine Häufigkeit von weniger als ein Mal pro Monat, 3,8 % (95%-KI: 1,9–7,4) eine Häufigkeit des Rauschtrinkens in jedem Monat und 0,1 % (95%-KI: 0,0–1,0) eine Häufigkeit des Rauschtrinkens in jeder Woche an (Antwort auf die Anfrage der Fraktion DIE LINKE „Schädigung von Föten durch Alkoholkonsums während der Schwangerschaft“ an die Bundesregierung, Drucksache 18/3378 vom 01.12.2014). Eine weitere Arbeit, die sich auf Zahlen aus Deutschland bezieht, errechnete eine Prävalenz der FASD von 177 pro 10.000 Personen sowie eine Prävalenz des FAS von 41 von 10.000 Personen (Kraus et al., 2019). Generell muss jedoch beachtet werden, dass von einem unbekanntem Anteil an Falschaussagen bei der Beantwortung der Fragebögen aufgrund einer gefürchteten möglichen Stigmatisierung der betroffenen Frauen ausgegangen werden muss (Göransson et al., 2003). Wie groß dieser Effekt ist und wie er sich auf die bisherig publizierten Prävalenzen auswirkt, konnte bisher nicht geklärt werden.

Unter Nutzung der klinischen Untersuchung von Kindern der ersten Klasse aus vier US-amerikanischen „Countys“ konnten 222 von 6.639 untersuchten Kindern mit einer FASD diagnostiziert werden. Hieraus ergab sich eine konservativ geschätzte Prävalenz von 113–500 von 10.000 Kindern, was einem Prozentsatz von 1,1–5,0 % entspricht (May et al., 2018).

Neuere Arbeiten nutzten die Messung von Biomarkern, die mit Alkoholkonsum assoziiert sind, zur Berechnung der Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft. Howlett et al. führten Messungen des Carbohydrat-defizienten Transferrins (CDT) sowie der Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) in 600 Proben von schwangeren Frauen durch. In dieser Kohorte zeigten 1,7 % der Frauen erhöhte CDT- und 4,2 % erhöhte GGT-Messwerte. Hierbei geben die Autoren jedoch zu bedenken, dass die genutzten Parameter nicht sensitiv genug seien, um den Konsum von geringen Mengen an Alkohol zu erfassen (Howlett et al., 2020).

Abschließend lässt sich sagen, dass die Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft sowie die Prävalenz der FASD bzw. des FAS stark abhängig von der benutzten Methode und den in die Analyse einbezogenen Daten ist. Eine endgültige Bestimmung der Prävalenz des mütterlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft konnte bisher nicht erzielt werden.

3.5 Risikofaktoren des mütterlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft

In den letzten Jahrzehnten konnten verschiedene Risikofaktoren des mütterlichen Alkoholkonsums identifiziert werden. Die wichtigsten dieser Risikofaktoren wurden in der deutschen S3-Leitlinie „Diagnose der Fetalen Alkoholspektrumstörung FASD“ von 2016 zusammengefasst.

In Untersuchungen aus Canada und den USA konnte ein höheres Alter der Schwangeren als Risikofaktor identifiziert werden. Allerdings wurde ein „höheres Alter“ hierbei sehr unterschiedlich definiert. Auch in Europa zeigten Studien ähnliche Ergebnisse (Landgraf et al., 2016).

Die Leitlinie nennt als weiteren Risikofaktor die Nationalität der Frauen. Auch hier liegen vor allem Studien aus den USA vor. Hierbei ist zu beachten, dass diese Studien oft an sehr selektiv ausgewählten Kohorten durchgeführt wurden, sodass eine Verzerrung in Bezug auf die Nationalität der Probanden nicht ausgeschlossen werden kann.

Auch der sozioökonomische Status der Mütter als Risikofaktor für Alkoholkonsum in der Schwangerschaft wird laut der Leitlinie in der Fachliteratur kontrovers diskutiert. Während Studien, die Gegenden mit generell niedrigerem sozioökonomischem Status untersuchten, oft höhere Raten an Alkoholkonsum in den Gruppen mit dem niedrigsten Sozialstatus fanden, zeigen Untersuchungen, welche die Bevölkerung repräsentativ widerspiegeln, ein gegensätzliches Bild: Hier wurde ein höheres Risiko des mütterlichen Alkoholkonsums bei arbeitenden, höher gebildeten und wohlhabenderen Frauen gefunden. Die Daten der deutschen KiGGS-Studie (Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland, Bergmann et al., 2007) untermauern diese Erkenntnisse eindrucksvoll. In der untersuchten Kohorte gaben 8,5 % der Frauen mit niedrigem Sozialstatus an, Alkohol in der Schwangerschaft konsumiert zu haben. Bei Frauen mit mittlerem Sozialstatus betrug dieser Wert bereits 13,2 %, um bei den Frauen mit hohem Sozialstatus mit 20,3 % den höchsten Wert zu erreichen. Interessanterweise zeigten die Befragungen bezüglich des Rauchens in

der Schwangerschaft ein komplett gegensätzliches Bild (niedriger Sozialstatus: 31,1 %, mittlerer Sozialstatus: 15,8 %, hoher Sozialstatus: 7,8 %, Bergmann et al., 2007).

Bezüglich der Herkunft der Mütter und deren Status als Migrantin konnte die KiGGS-Studie zeigen, dass Frauen, die zur Gruppe der Nicht-Migrantinnen gehören, ca. dreimal häufiger Alkohol konsumieren als Migrantinnen (15,4 % vs. 5,5 %). Diese Daten konnten auch für weitere Länder in Europa bestätigt werden (Bergmann et al., 2007).

Bei Betrachtung der Unterschiede des Lebens auf dem Land, in der Kleinstadt, in einer mittelgroßen Stadt oder in einer Großstadt sowie zwischen Ost- und Westdeutschland konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen der Mütter gefunden werden (Bergmann et al., 2007).

Die Leitlinie von 2016 gibt als weitere Risikofaktoren noch eine bestehende psychische Erkrankung wie eine Depression, eine Angststörung, eine Panikstörung sowie sexuelle Funktionsstörungen an (Landgraf et al., 2016). Schließlich zeigt sich auch hier, ähnlich wie bei der Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft, ein heterogenes Bild der bisher gewonnenen Erkenntnisse.

3.6 Alkoholkonsum-assoziierte Biomarker

Um die Prävalenz des mütterlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft zu erfassen, wurden bisher, wie im Abschnitt 3.4 bereits erwähnt, verschiedene Methoden verwendet. Neben der Befragung mittels eigener oder standardisierter Fragebögen (zum Beispiel AUDIT) oder der körperlichen Untersuchung zur Erfassung von typischen Pathologien im Rahmen einer FASD oder eines FAS wurden auch Arbeiten unter Nutzung von Biomarkern, die mit Alkoholkonsum assoziiert sind, publiziert. Hierbei ist zwischen direkten und indirekten Biomarkern des Alkoholkonsums zu unterscheiden.

Die direkten Biomarker des Alkoholkonsums messen entweder direkt den Alkoholgehalt in einer biologischen Probe (zum Beispiel im Blut oder im Atemgas) oder sie messen die direkt beim Abbau des Alkohols entstehenden Stoffwechselprodukte, zum Beispiel das Phosphatidylethanol oder das Ethylglucuronid.

Indirekte, im Folgenden als Alkoholkonsum-assoziierte Biomarker bezeichnete Biomarker des Alkoholkonsum betrachten dagegen die toxischen Auswirkungen des Alkohols auf verschiedenen Organfunktionen (zum Beispiel die erhöhte GGT als Zeichen einer Leberschädigung) oder messen die Auswirkungen des konsumierten Alkohols auf andere

Stoffwechselfparameter (zum Beispiel die Auswirkungen auf das Transferrin, Bager et al., 2017). Trotz der immer weiteren Verbreitung der direkten Parameter des Alkoholkonsums stellen die Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker nach wie vor ein wichtiges Standbein der Diagnostik des Alkoholkonsums dar.

Immer wieder wird in Längsschnittstudien diskutiert, ob diese Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker bei Konsumreduktion bzw. Abstinenz nicht nur in das Referenzintervall absinken, sondern auch innerhalb des Referenzintervalls im niedrigen Bereich liegen. Dementsprechend wurde unter anderem eine Überprüfung der Referenzintervalle dieser Biomarker gefordert, da zum Beispiel bei der GGT Probanden, die Alkohol konsumierten, bei der Berechnung der Referenzintervalle nicht ausgeschlossen wurden (Dettling et al., 2017).

Da in der hier vorliegenden Arbeit breit verfügbare Biomarker der täglichen Routineversorgung schwangerer Patientinnen Anwendung finden sollen, stützt sich diese Untersuchung auf die Messung und Auswertung von Alkoholkonsum-assoziierten Biomarkern (indirekte Biomarker des Alkoholkonsums). Nun soll im Weiteren auf die einzelnen genutzten Biomarker eingegangen und deren Aussagekraft und diagnostische Wertigkeit dargestellt werden.

3.6.1 Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT und %CDT)

Das Carbohydrat-defiziente Transferrin (CDT) wurde 1991 von Helena Stibler als neuer Marker des „prinzipiell schädlichen Alkoholkonsums“ vorgestellt (Stibler, 1991). Transferrin enthält normalerweise zwei Kohlenhydratketten, die aus vier verschiedenen Kohlenhydraten bestehen: N-Acetylglucosamin, Mannose, Galactose und Sialinsäure. Hierbei spielt die Sialinsäure eine besondere Rolle: Da Sialinsäure elektrisch geladen ist, wird sie am Ende der Kohlenhydratkette eingebaut. Hierbei kann die Anzahl von null bis sechs Sialinsäure-Resten variieren. Die am häufigsten vorkommende physiologische Isoform des Transferrins verfügt über je zwei Sialinsäure-Reste pro Kohlenhydratkette (Tetrasialotransferrin). Die verschiedenen Transferrin-Isoformen werden in Abbildung 1 dargestellt.

Ursprünglich konzentrierte man sich auf die Sialinsäure und fand bei alkoholabhängigen Probanden eine reduzierte Anzahl von Sialinsäure-Resten, sodass je nach Anzahl der Sialinsäure-Reste die Termini Disialotransferrin, Monosialotransferrin und Asialotransferrin geprägt wurden. Später fand man heraus, dass auch andere Kohlenhydratreste wie N-Acetylglucosamin und Galactose ebenfalls vermindert in die Kohlenhydratketten eingebaut

werden können. Letztendlich wurden diese verschiedenen Isoformen des Transferrins, denen Kohlenhydratseitenketten fehlen, unter dem Begriff „Carbohydrat-defizientes Transferrin“ zusammengefasst (Stibler, 1991). Grund für den Verlust der Kohlenhydrat-Reste ist vor allem die Inaktivierung der hepatischen Glycosyl-Transferase durch Abbauprodukte des Alkohols wie Acetaldehyd und der damit eingeschränkten Glycosylierung des Transferrins (Arndt et al., 2001).

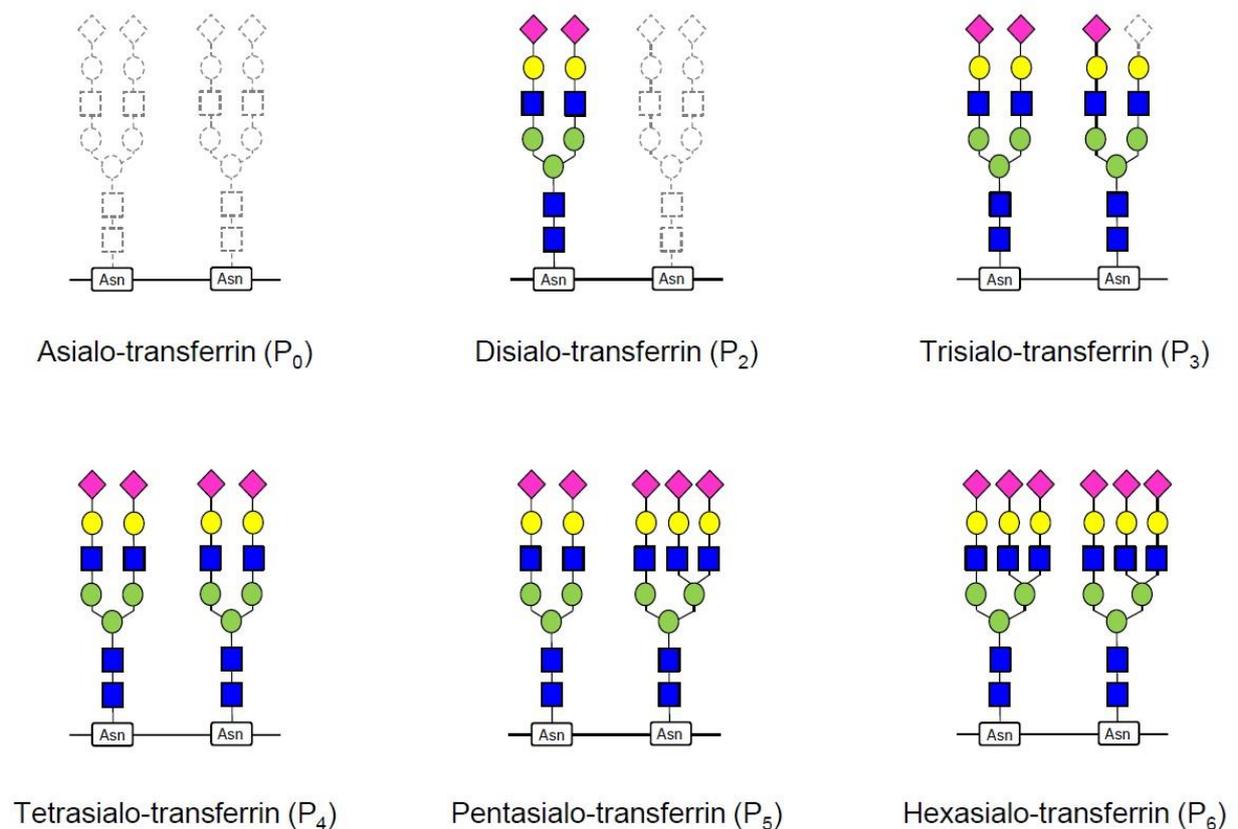


Abbildung 1: Isoformen des Transferrins in Abhängigkeit von den vorhandenen Kohlenhydratketten (aus Kohler et al., 2014)

Neben der Bestimmung des CDT als Konzentration hat sich die Angabe des gemessenen CDT als Anteil des Gesamt-Transferrins (prozentualer Anteil, %CDT) etabliert.

Um erhöhte CDT-Konzentrationen im Blut zu messen, müssen mindestens 60 g Ethanol pro Tag für mindestens sieben Tage in Folge konsumiert werden (Stoler et al., 1998). Aber auch geringere Alkoholmengen konsumiert über einen längeren Zeitraum können eine signifikante Erhöhung des CDT zur Folge haben (zum Beispiel 375 ml Wein pro Tag über vier Wochen (Ergebnisse bei gesunden Männern), Randell et al., 1998). Schellenberg et al.

konnten die Abhängigkeit der Messwerthöhe des %CDT von der täglich konsumierten Alkoholmenge zeigen. Je mehr Alkohol konsumiert wurde, desto höher lagen die %CDT-Messwerte. In einem Bereich von weniger als 40 g Ethanol pro Tag zeigte sich der Trend nur moderat. Bei Mengen von mehr als 40 g Ethanol pro Tag war der Zusammenhang deutlicher zu sehen (Schellenberg et al., 2005).

In Bezug auf das weibliche Geschlecht wurden auch geringere Alkoholmengen von 30 oder 40 g pro Tag als Ursache von erhöhten CDT-Messwerten diskutiert (Mitchell et al., 1997). Generell unterscheidet sich das CDT in der Diagnostik des Alkoholkonsums zwischen den Geschlechtern. Während bei Männern eine 10%-ige Änderung des CDT diagnostisch sensitiv und spezifisch für eine Änderung der Trinkgewohnheiten ist, zeigten Studien zum Verhalten des CDT bei Frauen kontroverse Ergebnisse. Bei Frauen scheint die Intensität des Konsums (g Ethanol pro Tag) einen größeren Einfluss auf die CDT-Konzentrationen zu haben als die Häufigkeit des Konsums (Anzahl der Tage mit Alkoholkonsum). Darüber hinaus zeigt das CDT bei Frauen eine Abhängigkeit von hormonellen Einflüssen (Cook JD, 2003). So konnte gezeigt werden, dass prämenopausale Frauen höhere CDT-Konzentrationen aufweisen als postmenopausale Frauen und dass eine Östrogen-Therapie mit höheren CDT-Konzentrationen assoziiert ist (Stauber et al., 1996).

Als weiterer Einflussfaktor bei Frauen wurde der Eisen-Haushalt diskutiert. Studien fanden hier gegensätzliche Ergebnisse. Whitfield et al. publizierte eine Korrelation zwischen niedrigen Eisen-Konzentrationen im Blut und erhöhten %CDT-Messwerten (Whitfield et al., 2001). Andere Arbeiten konnten diesen Zusammenhang nicht bestätigen (Stauber et al., 1996).

Weitere Einflussfaktoren auf die Ausprägung des CDT bzw. des %CDT sind genetische Varianten des CDT (Möglichkeit eines falsch-positiven Befundes), das Alter (geringere CDT-Konzentrationen bei jungen alkoholabhängigen Frauen), Erkrankungen der Leber (höhere CDT-Messwerte bei Leberinsuffizienz oder biliärer Zirrhose (heute primär biliäre Cholangitis)) oder pharmakologische Einflüsse wie orale Kontrazeptiva oder Antikonvulsiva (Fleming et al., 2004).

Trotz der vielfältigen Einflussfaktoren auf die CDT-Konzentration, gilt die Messung des CDT vor allem als sehr spezifischer Biomarker zum Nachweis eines schädlichen Alkoholkonsums. Die publizierten Spezifitäten reichen von 70–100 %, während die Sensitivität mit 46–90 % geringer ausfällt (Andresen-Streichert et al., 2018). Verschiedene Autoren geben jedoch zu

bedenken, dass zwischen abstinenten Personen und moderat konsumierenden Personen keine signifikanten Unterschiede in den CDT-Messwerthöhen zu erwarten sind (Dettling et al., 2017).

Bezüglich der CDT- bzw. %CDT-Erhöhung in der Schwangerschaft liegen bisher inkonsistente Daten vor. Während manche Autoren eine leichte Absenkung der %CDT-Messwerte im Verlauf der Schwangerschaft berichteten, fanden andere Arbeiten ansteigende %CDT-Messwerte mit steigendem Gestationsalter (Bianchi et al., 2011). Kenan et al. konnten neben dem bekannten Anstieg des Gesamt-Transferrins einen Anstieg des Disialotransferrins als dominante Form des CDT zeigen. Allerdings sank in dieser Untersuchung das Trisialotransferrin ab, während die längeren Kohlenhydratketten (Pentisialotransferrin und Hexasialotransferrin) im Laufe der Schwangerschaft in höheren Konzentrationen messbar waren (Kenan et al., 2011). Auch die 2012 publizierte Arbeit von Bakhireva et al. konnte den Anstieg des CDT während der Schwangerschaft abstinenter Frauen bestätigen (Bakhireva et al., 2012). Um dem Anstieg des CDT in der Schwangerschaft zu korrigieren, wurde vorgeschlagen, das CDT als Prozentsatz des Gesamt-Transferrin anzugeben (als %CDT, Bakhireva et al., 2011).

In der Vergangenheit wurde das CDT bereits genutzt, um in Studien den Alkoholkonsum in der Schwangerschaft zu objektivieren. Shipton et al. publizierten 2013 dazu eine Pilotstudie, in der CDT-Messungen in Serumproben von 150 schwangeren Frauen durchgeführt wurden. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass sich die Messung des CDT gut eignet, um die Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft zu untersuchen. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass auch das langfristige Einfrieren der Serumproben keinen Einfluss auf die Messung des CDT hat (Shipton et al., 2013).

Aufgrund der hohen Spezifität der CDT-Messung, der langfristigen Stabilität des CDT in gefrorenen Serumproben sowie der von Shipton et al. als positiv gewerteten Pilotstudie wurde die Messung des CDT und des %CDT in der hier vorliegenden Arbeit als verlässlicher Hinweis auf einen schädlichen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft angesehen. Aufgrund der empfohlenen Korrektur des CDT mithilfe des Gesamt-Transferrin, der Berechnung des %CDT, wurde nur das %CDT zur Berechnung der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums verwendet.

3.6.2 Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

Alkoholkonsum induziert eine vermehrte Bildung der GGT in der Leber. Bei erhöhtem Alkoholkonsum spiegelt die Erhöhung der GGT dabei die toxische Wirkung des Ethanols und seiner Abbauprodukte auf die Leber wider (Dettling et al., 2017). Dafür muss der Alkoholkonsum über einen längeren Zeitraum bestehen. Kurze Perioden von Alkoholkonsum werden mit einer Messung der GGT nicht erfasst (Brinkmann et al., 2000). Hietala et al. konnten zeigen, dass die Höhe der GGT-Messwerte abhängig von der Menge des konsumierten Alkohols war. Es zeigten sich jeweils signifikante Unterschiede in den Mittelwerten der GGT-Messwerte zwischen abstinenten Probanden, Probanden mit einem Konsum von 1–40 g pro Tag, mit einem Konsum von 40–80 g pro Tag und Probanden mit einem Konsum von mehr als 80 g pro Tag (Hietala et al., 2005).

Eine weitere Arbeit zeigte bei Frauen lediglich für die GGT einen Zusammenhang mit der Menge des konsumierten Alkohols im Gegensatz zur Alanin-Aminotransferase (ALAT, GPT) und zur Aspartat-Aminotransferase (ASAT, GOT). Bei Männern konnte ein Zusammenhang für alle drei Parameter gezeigt werden. (Stranges et al., 2004). Die gleiche Arbeit beobachtete bei den Frauen bereits bei kleineren Trinkmengen einen Anstieg der GGT.

Bezüglich des schädlichen Alkoholkonsums wird für die GGT eine Sensitivität von 37–95 % bei einer Spezifität von 18–93 % angegeben. Damit stellt sich die GGT im Vergleich zum CDT als der sensitivere, aber weniger spezifische Parameter heraus (Andresen-Streichert et al., 2018). Der Verlust an Spezifität ist vor allem darauf zurückzuführen, dass die GGT eine allgemeine Schädigung des Lebergewebes anzeigt und somit auch bei einer Vielzahl anderer Erkrankungen wie dem metabolischen Syndrom, vor allem bei Vorliegen einer Nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD (Non-alcoholic fatty liver disease) bzw. NASH (Non-alcoholic steatohepatitis) sowie Hepatitiden etc., erhöht im Blut messbar ist.

3.6.3 Der kombinierte Biomarker GGT-CDT

Anttila et al. entwickelten 2003 einen neuen Biomarker, der in Bezug auf einen schädlichen Alkoholkonsum bessere Sensitivitäten und Spezifitäten zeigte. Hierzu kombinierten Sie die Messung aus GGT und CDT in einem kombinierten Biomarker GGT-CDT (Anttila et al., 2003). Dieser kombinierte Biomarker berechnet sich wie folgt:

$$\text{GGT-CDT} = 0,8 \times \ln(\text{GGT}) + 1,3 \times \ln(\% \text{CDT})$$

Hierbei bezeichnet „ln“ den natürlichen Logarithmus. Bezüglich der Maßeinheiten muss zur richtigen Berechnung die GGT in U/l und das %CDT in % in die Formel eingesetzt werden.

Die gleiche Arbeitsgruppe verglich in einer weiteren Studie diesen neuen Biomarker mit den bereits bekannten Biomarkern CDT, GGT, ALAT und ASAT. Hierbei wurde nach ROC-Analyse zur Findung eines optimalen Cut-offs eine Sensitivität von 90 % sowie eine Spezifität von 98 % ermittelt. In der Subanalyse zeigte sich für die Frauen eine Sensitivität von 96 % sowie eine Spezifität von 97 %. Darüber hinaus korrelierte der GGT-CDT-Wert am stärksten mit der Selbstauskunft der Probanden ($r = 0,76$, $p < 0,001$) im Vergleich zu GGT ($r = 0,71$, $p < 0,001$) und CDT ($r = 0,59$, $p < 0,001$) als alleinige Parameter (Hietala et al., 2006). Bezüglich der Identifizierung des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft zeigte der GGT-CDT-Wert ebenfalls eine hohe Spezifität von 95,3 % bei allerdings sehr schlechter Sensitivität in Bezug auf das Vorhersagen eines FAS beim Kind. Bei Frauen mit Kindern, bei denen ein FAS diagnostiziert wurde, betrug die Sensitivität lediglich 39,5 % (Niemelä et al., 2016b).

3.6.4 Mittleres korpuskuläres Volumen (MCV)

Das mittlere korpuskuläre Volumen der Erythrozyten stellt einen Standardparameter des hämatologischen Labors dar. Neben der Funktion zur Erkennung einer Vergrößerung der Erythrozyten durch zum Beispiel einen Vitamin-B12-Mangel mit einer makrozytären Anämie als Folge kann das MCV auch zur Diagnostik des schädlichen Alkoholkonsums genutzt werden (Sarkola et al., 2000). Der Mechanismus des ansteigenden MCV im Rahmen eines schädlichen Alkoholkonsums ist dabei auf die toxischen Effekte des Alkohols und seiner Abbauprodukte auf hämatologische Präkursor-Zellen zurückzuführen (Cook et al., 2003). Im Allgemeinen gilt das MCV als spezifischer (80–90 %) aber nicht sehr sensitiver (40–50 %)

Biomarker des schädlichen Alkoholkonsums (Andresen-Streichert et al., 2018). Sarkola et al. konnten dabei eine überzeugende Spezifität für die Prädiktion des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft (31 von 31 Patientinnen) sowie für die Prädiktion der Auswirkungen des Alkoholkonsums auf die Kinder (36 von 36 Patientinnen) berichten. Allerdings zeigten sich die Sensitivitäten unter diesen hohen Spezifitäten sehr niedrig (2 von 13 Patientinnen bzw. 2 von 8 Patientinnen, Sarkola et al., 2000). Trotz der hohen Spezifität ist vor allem ein Vitamin-B12-Mangel als weiterer Grund einer Erhöhung des MCV zu berücksichtigen. Der Umgang mit Proben mit erhöhtem MCV-Messwert in der hier vorliegenden Studie wird unter 4.3.4 näher erläutert.

3.7 Zielsetzung der Arbeit

Aufgrund der bisher weitgehend unbekanntem Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft sowie der in der aktuellen Literatur bisher eher kleinen untersuchten Kohorten, ist die Zielsetzung dieser Arbeit die Messung der Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker CDT, %CDT, GGT, GGT-CDT und MCV in einer großen Kohorte von schwangeren Frauen sowie in einer bezüglich des Alters vergleichbaren Vergleichskohorte von nicht-schwangeren Frauen zur Berechnung der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums. Hierbei wird unter einem schädlichen Alkoholkonsum ein täglicher Konsum von mindestens 40 g Ethanol für mindestens 7 Tage verstanden.

Neben der Berechnung der Prävalenz soll das bisher kontrovers diskutierte Verhalten des CDT bzw. %CDT im Verhältnis zum Schwangerschaftsalter überprüft werden.

Von schwangeren Frauen, von denen nach einem erhöhten ersten Messergebnis des %CDT Folgeproben vorhanden sind, sollen in diesen Folgeproben ebenfalls das %CDT gemessen werden, um einen longitudinalen Verlauf des %CDT bei schwangeren Frauen mit initial auffälligen Proben darstellen zu können.

4 Material und Methoden

4.1 Studiendesign

Das Design der Studie bestand aus einem retrospektiven sowie einem prospektiven Anteil. Im Folgenden soll auf die verschiedenen Anteile der Studie näher eingegangen werden. Des Weiteren wird der Inhalt des Votums der Ethikkommission der Ärztekammer Sachsen-Anhalt (Nr. 56/17) erläutert.

4.1.1 Retrospektiver Anteil der Studie

Nur in seltenen Fällen und meist bei begründetem Verdacht werden Alkoholkonsum-assoziierte Parameter in der Routineversorgung von schwangeren Frauen durch die gynäkologischen Ärzt:innen im Labor angefordert. Da in dieser Studie unter anderem die MCV-Messwerte der Schwangeren ausgewertet werden sollten, und das MCV als Parameter des kleinen Blutbildes noch am Tag der Probenentnahme analysiert werden muss, konnten nur Proben von Schwangeren eingeschlossen werden, die am selben Tag im Rahmen derselben Blutentnahme eine Bestimmung des MCV erhielten. Um eine ausreichend große Datenbasis zu schaffen, wurden die in unserem Labor archivierten Proben von schwangeren Frauen genutzt. Hierbei handelt es sich um Proben, die aufgrund einer Toxoplasmose-Serologie nach Messung der Toxoplasma-gondii-Antikörper über die Dauer der Schwangerschaft hinweg als Back-up-Proben eingefroren werden. Im Falle einer im Schwangerschaftsverlauf eintretenden Serokonversion kann so durch Bestimmung der Toxoplasma-gondii-IgM-Antikörper in der Back-up-Probe der Infektionszeitpunkt genauer bestimmt werden.

Genutzt wurden für die hier vorliegende Studie dabei nur Proben, die aufgrund einer ausreichend langen Archivierungsdauer verworfen worden wären. Über den weiteren Umgang mit den Proben (Sortierung, Ausschlusskriterien, etc.) informiert Abschnitt 4.2.1. Frauen, bei denen mehrfache Back-up-Proben asserviert waren, wurden zum Ausschluss einer Mehrfachmessung anhand des Original-Barcodes identifiziert.

Back-up-Proben von Schwangeren, die in der ersten Messung in Bezug zum ausgewählten Cut-off des %CDT einen erhöhten Messwert zeigten und von denen mehrere Back-up-Proben vorhanden waren, wurden separat archiviert. Diese Proben wurden genutzt, um den longitudinalen Verlauf des %CDT dieser Schwangeren zu untersuchen.

4.1.2 Prospektiver Anteil der Studie

Da wie in Abschnitt 4.1.1 erwähnt Alkoholkonsum-assoziierte Biomarker nur selten in der Routinediagnostik angefordert werden, erfolgte bei jeder Schwangeren die Messung des CDT (mit Berechnung des %CDT) und der GGT. Bei den nicht-schwangeren Frauen erfolgte ebenfalls die Messung des CDT (und %CDT) sowie die Messung der GGT, falls im Original-Laborauftrag keine Anforderung der GGT vorhanden war. Um vergleichbare präanalytische Zustände zu schaffen, wurden die Proben der nicht-schwangeren Frauen bis zur Messung wie die Proben der schwangeren Frauen bei -20 °C tiefgefroren.

4.1.3 Inhalt des Ethikvotums

Aufgrund der Fragestellung der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums während der Schwangerschaft und dem damit einhergehenden in der Literatur bekannten „Selection Bias“ bei Erfragen eines Einverständnisses zur Teilnahme an einer solchen Studie (Göransson et al., 2003) wurde bei den in die Studie eingeschlossenen schwangeren als auch nicht-schwangeren Frauen kein Einverständnis eingeholt. Aufgrund dessen forderte die Ethikkommission der Ärztekammer Sachsen-Anhalt ein pseudoanonymisiertes Vorgehen bei der Messung der Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker. Nach Auswahl der messbaren Proben (Kriterien siehe 4.2.1) wurden diese in neue Probenröhrchen überführt und mit einem neuen, vom Original-Barcode unabhängigen Barcode versehen. Mit diesem Barcode war lediglich eine fortlaufende Nummer zur Zählung der bereits gemessenen Proben verknüpft. Aus den Proben, in denen die Parameter GGT und CDT gemessen wurden, konnten keinerlei Rückschlüsse auf die Identitäten der Frauen gezogen werden. Das gleiche Procedere wurde für die Messungen der nicht-schwangeren Frauen angewendet. Lediglich zur Identifikation von Mehrfachmessungen und den damit verbundenen Messungen als Verlaufskontrollen bei schwangeren Frauen mit erhöhten Messwerten in der ersten Messung wurden die Original-Barcodes genutzt.

4.2 Herkunft und Auswahl der Proben

In den folgenden drei Unterabschnitten soll die Herkunft der Proben dargestellt und die angewendeten Ausschlusskriterien erläutert werden. Abschließend wird die Altersstruktur der Frauen in beiden Kohorten betrachtet.

4.2.1 Schwangere Frauen

Wie bereits unter 4.1.1 erläutert, handelt es sich bei den Proben der schwangeren Frauen um Back-up-Proben, die im Rahmen einer serologischen Untersuchung auf Toxoplasma-gondii-Antikörper nach erfolgter Messung in unserem Labor archiviert wurden. Zum Zeitpunkt des eigentlichen Verwerfens der Proben erfolgte die Sichtung und das Aussortieren der Proben. Hierbei wurden die Proben visuell auf ein ausreichendes Probenvolumen (mindestens 1 ml Serum) sowie ersichtliche Hämolyse, Lipämie oder ikterischen Farbe geprüft. Proben mit zu geringem Probenvolumen sowie mit auffälliger Verfärbung wurden verworfen. Back-up-Proben von nicht-schwangeren Frauen sowie von Frauen ohne eine Messung des MCV am Einsendetag der Probe wurden ebenfalls verworfen. Danach wurde überprüft, ob die Schwangere bereits in den vorherigen Messungen untersucht wurde. War dies der Fall, so wurde die Probe als mögliche Probe für den longitudinalen Studienanteil archiviert. Abbildung 2 zeigt die Anzahl der initial begutachteten Back-up-Proben sowie die Anzahl der verworfenen und letztendlich messbaren Proben.

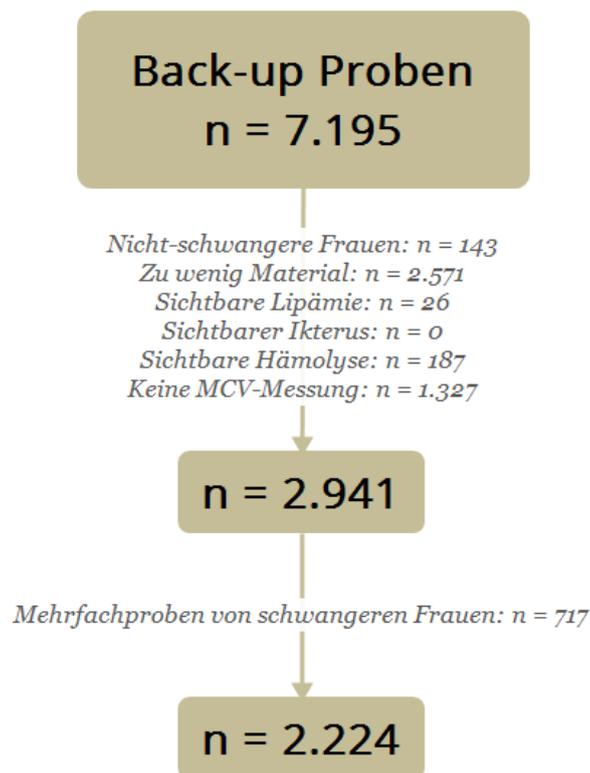


Abbildung 2: Darstellung der Probenauswahl und der Anzahl der ausgeschlossenen Back-up-Proben

4.2.2 Nicht-schwangere Frauen

Als Kontrollgruppe zu den schwangeren Frauen wurden nicht-schwangere Frauen mit vergleichbarer Altersstruktur gewählt. Hierbei handelte es sich um Proben, die in das Medizinische Labor Prof. Schenk/Dr. Ansorge und Kollegen eingesendet wurden. Die Serumproben aller Patienten werden für 10 Werktage im Probenarchiv aufbewahrt. Am Tag der Entsorgung der Proben wurde eine Liste der Einsendungen von diesem Tag erstellt, welche die Kriterien weiblich, Alter zwischen 14 und 46 Jahren (angepasst an die beobachtete Altersspanne der schwangeren Frauen) und Messung des MCV am Einsendetag erfüllten. Nachfolgend wurden die Proben aus dem Archiv herausgesucht und wie die Proben der schwangeren Frauen visuell auf ein ausreichendes Probenvolumen (mindestens 1 ml Serum) sowie ersichtliche Hämolyse, Lipämie oder ikterischen Farbe überprüft. Proben mit zu geringem Probenvolumen sowie mit auffälliger Verfärbung wurden analog zum Procedere der Probenauswahl der schwangeren Frauen verworfen. Zusätzlich wurden die Proben anhand des Alters ausgewählt, um eine möglichst vergleichbare Altersstruktur in beiden Gruppen zu gewährleisten. Die resultierenden Altersstrukturen der beiden Kohorten werden

unter 4.2.3 genauer betrachtet. Nachfolgend wurde geprüft, ob die so ausgewählten Proben von nicht-schwangeren Frauen stammten. Dabei wurden Parameter mit speziellen Schwangerschafts-spezifischen Untersuchungen wie Blutgruppenbestimmung in der Schwangerschaft, Antikörpersuchtest, Röteln-Serologie, Toxoplasma-gondii-Serologie u. A. sowie Vermerke wie die Schwangerschaftswoche oder klinische Fragestellungen („Gravidität?“, etc.) auf den Einsendescheinen genutzt, um schwangere Frauen auszuschließen. Um gleiche präanalytische Verhältnisse zu schaffen, wurden die ausgewählten Proben der Kontrollgruppe analog zu den Proben der schwangeren Frauen bei -20 °C tiefgefroren.

4.2.3 Altersstruktur der Frauen

Zum Vergleich der Altersstruktur zwischen der Gruppe der schwangeren sowie der Gruppe der nicht-schwangeren Frauen sind die statistischen Kennzahlen des Alters für beide Gruppen in Tabelle 1 gegenübergestellt. Zusätzlich wird die Altersstruktur beider Gruppen in Abbildung 3 und 4 jeweils als Histogramm dargestellt.

Tabelle 1: Statistische Kennzahlen des Alters für schwangere sowie nicht-schwangere Frauen. Dargestellt werden der Mittelwert mit der dazugehörigen Standardabweichung sowie der Median gemeinsam mit der Messwertspanne (Range).

<u>Kennzahl</u>	<u>Schwangere Frauen</u> (n = 2.182)		<u>Nicht-Schwangere Frauen</u> (n = 743)	
Median (Range)	29,0	(14,0–46,0)	30,0	(15,0–43,0)
Mittelwert (SD)	29,5	(5,0)	29,8	(5,0)

Man erkennt, dass bezüglich des Alters von einer guten Vergleichbarkeit der Gruppen ausgegangen werden kann.

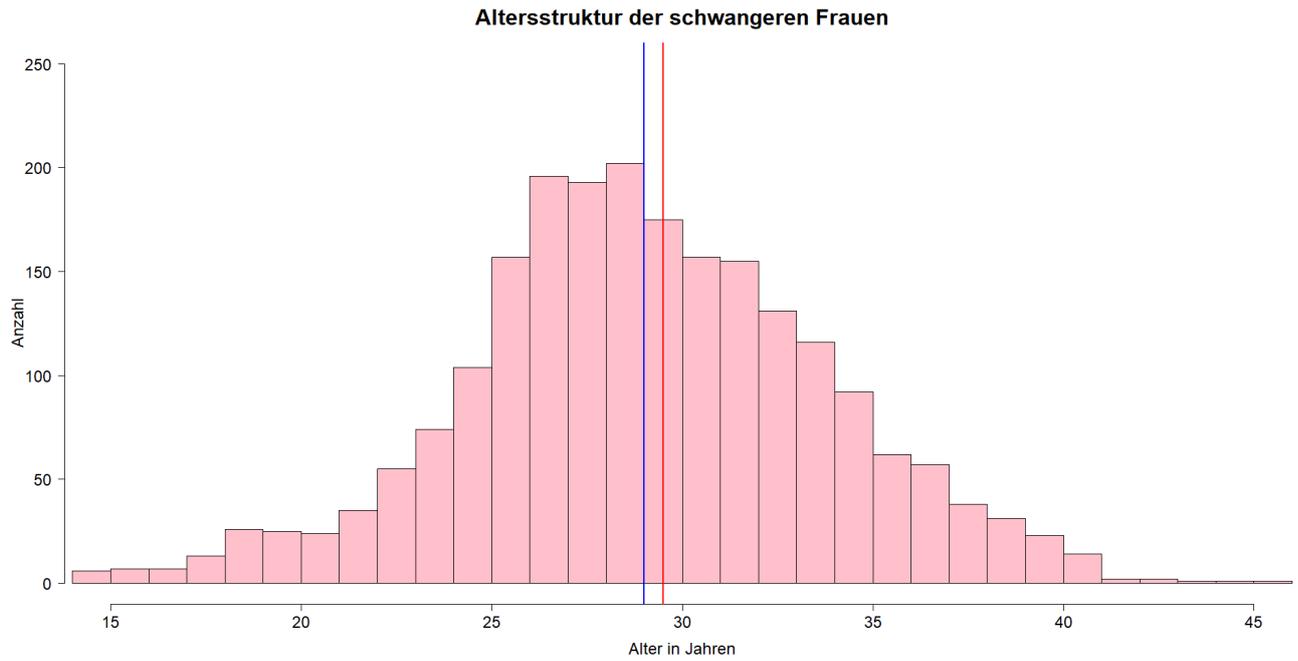


Abbildung 3: Histogramm der Altersverteilung der schwangeren Frauen. Der Mittelwert wird als rote vertikale Linie und der Median als blaue vertikale Linie dargestellt.

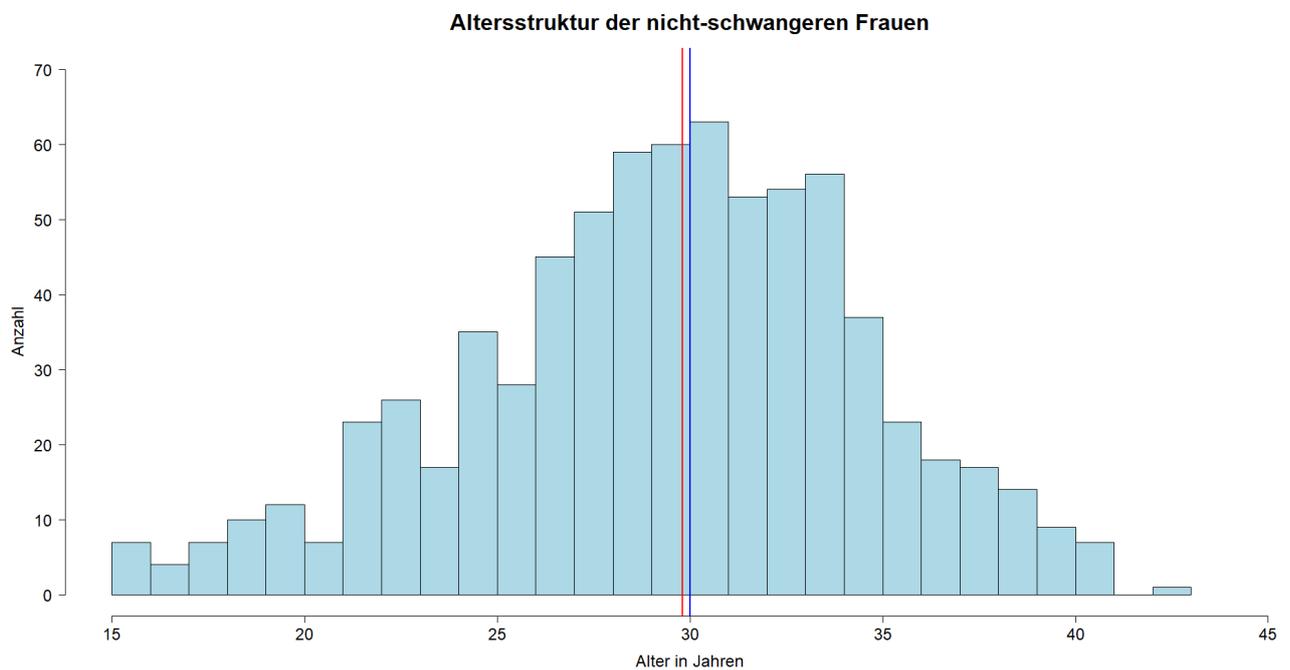


Abbildung 4: Histogramm der Altersverteilung der nicht-schwangeren Frauen. Der Mittelwert wird als rote vertikale Linie und der Median als blaue vertikale Linie dargestellt.

4.3 Messmethoden der Biomarker

Nachfolgend soll die jeweilige Messmethodik der genutzten Biomarker erläutert werden.

4.3.1 CDT und %CDT

Die Messung des CDT erfolgte unter Nutzung des immunonephelometrischen „N Latex CDT“- sowie „N Antisera to Human Transferrin and Haptoglobin“-Assays der Firma Siemens auf der Analyseplattform „BN ProSpec analyzer“ (Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, Deutschland). Das Testprinzip beruht auf der Verdrängung von Polystyrol-gebundenem CDT von der Bindung mit monoklonalen Antikörpern gegen humanes CDT durch das CDT in der Patientenprobe. Je mehr CDT in der Patientenprobe enthalten ist, desto weniger Polystyrol-Partikel können aggregieren und desto weniger Streulicht ist in der nephelometrischen Messung quantifizierbar. Parallel dazu erfolgte die Messung des Gesamt-Transferrin in der Probe, sodass der prozentuale Anteil des CDT am Gesamt-Transferrin (%CDT) automatisch berechnet wurde. Hierbei erfasst der Test Disialo-, Monosialo- und Asialotransferrin (Delanghe et al., 2007).

4.3.2 GGT

Zur Messung der GGT wurde der IFCC/Szasz-standardisierte „GGT-2“ Test der Firma Roche genutzt. Als Plattform für die Messung diente der „Roche Cobas 6000 modular analyzer c701“ (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Bei diesem Test handelt es sich um einen enzymatischen Farbttest, bei dem durch die katalytische Aktivität der GGT eine γ -Glutamylgruppe von L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid auf Glycylglycin übertragen wird. Hierbei entsteht 5-Amino-2-nitrobenzoat, dessen Zunahme in der Probe bei Anwesenheit der GGT aufgrund einer Extinktionszunahme mittels Photometrie gemessen werden kann. Zusätzlich zu jeder GGT-Messung erhielt jede Probe automatisch einen Hemolysis-Ikterus-Lipemia (HIL)-Check zum Ausschluss präanalytischer Interferenzen. Hierbei wird bei verschiedenen bichromatischen Wellenlängenpaaren die Extinktion der Probe gemessen. Die Extinktion bei 570 nm und 600 nm Wellenlänge korreliert dabei mit der Konzentration des freien Hämoglobins in der Probe (Hämolyse). Bezüglich eines Ikterus (Korrelation mit Bilirubin in der Probe) wird die Extinktion bei 480 nm und 505 nm Wellenlänge gemessen. Zur Erkennung einer Lipämie wird die Messung bei 660 nm und 700 nm Wellenlänge

durchgeführt. Hierbei besteht allerdings keine Korrelation mit der Konzentration der Triglyceride, da auch andere Partikel wie Chylomikronen u.a. zur Extinktion beitragen.

4.3.3 GGT-CDT

Wie bereits unter 3.6.3 erläutert, wurde der kombinierte Biomarker GGT-CDT 2003 von Anttila et al. vorgeschlagen (Anttila et al., 2003). Die Berechnung des Biomarkers sowie die Vor- und Nachteile sind bereits unter 3.6.3 dargestellt worden.

4.3.4 MCV

Die Messung des MCV erfolgte unter Nutzung der vollautomatischen hämatologischen Routine-Messgeräte „Sysmex XE-2100“ der Firma Sysmex (Sysmex Deutschland, Norderstedt, Deutschland). Hierbei ist anzumerken, dass es sich beim MCV um einen Rechenparameter handelt, der sich aus dem Quotienten von Hämatokrit und Erythrozytenzahl (RBC) ergibt. Dabei wird der Hämatokrit im verwendeten Analysesystem unter Anwendung der kumulativen Impulshöhensummierung und der RBC mittels Impedanzmessung jeder einzelnen Zelle in einem definierten Probenvolumen gemessen.

Da neben schädlichem Alkoholkonsum vor allem auch ein Vitamin-B12-Mangel ein erhöhtes MCV bedingen kann, wurden alle mit erhöhtem MCV aufgefallenen Proben mittels der Messung des Holo-Transcobalamins (HTC, „Elecsys Active B12“, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland, Messung mittels ECLIA) auf das Vorliegen eines Vitamin-B12-Mangels untersucht. Zeigte sich ein erniedrigtes oder grenzwertiges HTC, so wurde die Probe komplett aus der Studie ausgeschlossen.

4.3.5 Abschließende Anzahl der Proben

Nach Ausschluss der nicht messbaren Proben sowie der Proben, bei denen aufgrund zu geringer Konzentration des Gesamt-Transferrins eine Berechnung des %CDT nicht möglich war, konnten insgesamt 2.182 schwangere Frauen in die Analyse einbezogen werden. Abbildung 5 zeigt ein Flusschema der nach der Messung ausgeschlossenen Proben sowie der endgültig für eine Analyse zur Verfügung stehenden Probenanzahl.

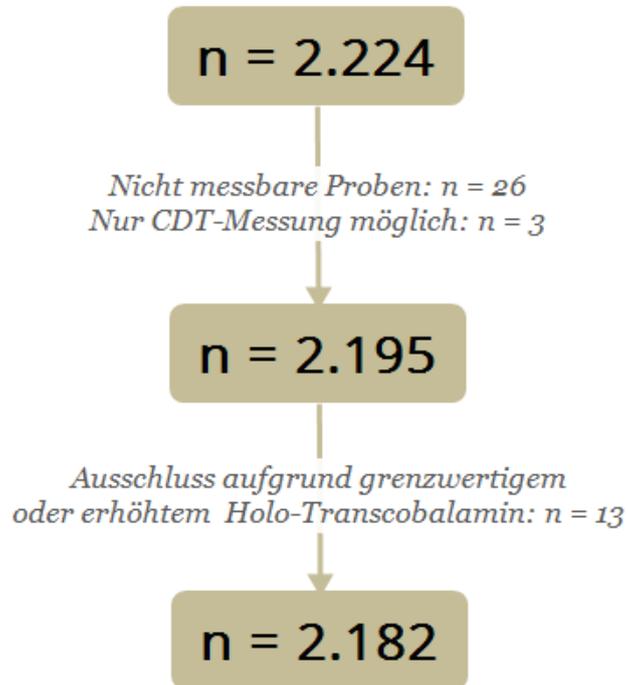


Abbildung 5: Darstellung der nach der Messung ausgeschlossenen Proben sowie der endgültigen in die Analyse einbezogenen Anzahl der Proben

4.4 Auswahl der Cut-offs

Aufgrund der Vielzahl der bisher publizierten möglichen Cut-off-Werte zur Definition eines erhöhten Messwertes soll im Folgenden die Auswahl der in dieser Studie angewendeten Cut-offs dargestellt werden.

4.4.1 %CDT

Da %CDT als spezifischster Routine-Marker des schädlichen Alkoholkonsums anzusehen ist, war das Ziel der Auswahl des geeigneten Cut-offs eine möglichst hohe Übereinstimmung mit der von uns genutzten Messmethode. Niemelä et al. publizierten diesbezüglich 2016 eine Arbeit, welche die Messung der GGT und des %CDT sowie die Anwendung des kombinierten Biomarkers GGT-CDT zur Detektion des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft untersuchte (Niemelä et al., 2016b). Hierbei wurde ein Cut-off von 1,79 % zur Definition eines erhöhten %CDT vorgeschlagen. Es handelt sich dabei um den Mittelwert zuzüglich zwei Standardabweichungen von abstinenten Frauen. Die Sensitivität sowie Spezifität des Test sind in Tabelle 3 im Ergebnisteil unter 5.2 dargestellt. Darüber hinaus wurde in dieser Studie das %CDT unter Nutzung des gleichen Testsystems („N Latex CDT“ auf „BN ProSpec“ von Siemens) gemessen, was eine Nutzung diesen Cut-offs in der hier vorliegenden Studie nahelegt.

4.4.2 GGT

Die gleiche Arbeitsgruppe, die den unter 4.4.1 erwähnten Cut-off des %CDT publizierte, verglich in einer weiteren Arbeit im Jahr 2016 die Nutzbarkeit der GGT, des %CDT sowie des kombinierten Biomarkers GGT-CDT für ein Screening bezüglich der Detektion von FAS-Fällen (Niemelä et al., 2016a). Auch in dieser Arbeit wurde das %CDT unter Nutzung des gleichen Testsystems wie in der hier vorliegenden Studie gemessen. Die GGT wurde mit einem ebenfalls IFCC-standardisierten GGT-Test der Firma Abbott gemessen. Aufgrund der Standardisierung ist von einer sehr guten Vergleichbarkeit der Messwerte und somit der Cut-offs auszugehen, auch wenn die GGT in der hier vorliegenden Studie mit dem Testsystem eines anderen Herstellers (Roche Diagnostics) gemessen wurde. Für die GGT wurden in der Studie von Niemelä et al. verschiedene Cut-offs überprüft. Zur Anwendung für die Berechnung der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der hier vorliegenden Studie

wurde der Cut-off von 40 U/l ausgewählt. Grund der Auswahl war die höchste Spezifität mit 96,4 % (Niemelä et al., 2016a).

4.4.3 GGT-CDT

Der angewendete Cut-off des GGT-CDT wurde aus der gleichen Studie wie der Cut-off der GGT entnommen (Niemelä et al., 2016a). Auch für den kombinierten Biomarker GGT-CDT wurden verschiedene Cut-offs miteinander verglichen. Es wurde ebenfalls der Cut-off mit der höchsten Spezifität ausgewählt, sodass ein Cut-off von 3,80 in der hier vorliegenden Studie angewendet wurde (98,0 % Spezifität).

4.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse der erhobenen Daten wurde unter Nutzung der als „Open Source“-Projekt frei verfügbaren Programmiersprache „R“ (Version 4.0.3, Wien, Österreich) in der dafür vorgesehenen grafischen Benutzeroberfläche „RStudio“ durchgeführt. Die Prüfung der Daten auf das Vorliegen einer Normalverteilung erfolgt unter Nutzung des Shapiro-Wilk-Tests. Da sich keiner der analysierten Parameter normalverteilt zeigte, wurden nichtparametrische Tests verwendet. Die Prävalenzraten wurden mit Hilfe des Chi²-Tests verglichen. Die Berechnung der Konfidenzintervalle erfolgte unter Verwendung der Normalapproximation. Für den Vergleich von zwei unabhängigen Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test (U-Test, Wilcoxon-Rangsummentest) verwendet. Zur Analyse des longitudinalen Studienanteils wurde aufgrund der Abhängigkeit der Gruppen der Wilcoxon-Test (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test) genutzt. Für den Vergleich von mehr als zwei unabhängigen Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test mit Hinzunahme der Korrektur nach Bonferroni angewendet. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 gesetzt ($p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen). Aufgrund des explorativen Charakters der Studie wurde keine weitere Adjustierung zur parallelen Betrachtung mehrerer Endpunkte vorgenommen.

5 Ergebnisse

5.1 Ausprägung der Biomarker zwischen schwangeren und nicht-schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt

Um einen Überblick über die Messergebnisse der in dieser Studie gewählten Biomarker in beiden Kohorten zu erhalten, werden die Ergebnisse in Form einer Tabelle dargestellt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Messergebnisse der Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker bei schwangeren und nicht-schwangeren Frauen als Median sowie als Mittelwert mit den dazugehörigen Streuungsmaßen (Messwertspanne (Range) bzw. Standardabweichung (SD)). Vergleich der Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Test.

<u>Parameter</u>	<u>Schwangere Frauen</u> (n = 2.182)		<u>Nicht-Schwangere Frauen</u> (n = 743)		<u>p-Wert</u>
CDT mg/l Median (Range)	44,5	(21,5–99,8)	39,7	(21,8–80,2)	-
CDT mg/l Mittelwert (SD)	47,0	(13,8)	40,3	(9,4)	< 0,001
%CDT Median (Range)	1,47	(0,83–2,47)	1,52	(0,96–3,60)	-
%CDT Mittelwert (SD)	1,48	(0,25)	1,53	(0,24)	< 0,001
GGT U/l Median (Range)	11,4	(1,2–163,2)	16,2	(5,4–814,8)	-
GGT U/l Mittelwert (SD)	13,8	(9,7)	22,5	(35,4)	< 0,001
GGT-CDT Median (Range)	2,45	(0,34–4,67)	2,77	(1,66–5,89)	-
GGT-CDT Mittelwert (SD)	2,47	(0,44)	2,84	(0,49)	< 0,001
MCV fl Median (Range)	86	(57–133)	85	(60–106)	-
MCV fl Mittelwert (SD)	86	(5)	85	(5)	0,067

Es zeigt sich ein höherer Median des CDT bei den schwangeren Frauen im Vergleich zu den nicht-schwangeren Frauen, während die Mediane des %CDT, der GGT sowie des GGT-CDT bei den nicht-schwangeren Frauen höher liegen. Die Mediane des MCV unterscheiden sich nicht zwischen den beiden Kohorten. Bezüglich der Mittelwerte zeigt sich ein übereinstimmendes Bild. Alle Biomarker, mit Ausnahme des MCV, zeigen statistisch signifikante Unterschiede zwischen schwangeren und nicht-schwangeren Frauen, wobei auch hier das CDT bei den Schwangeren höher liegt als bei den Nicht-Schwangeren. Aufgrund des statistisch nicht signifikanten Unterschiedes des MCV wurde auf eine weitere Analyse dieses Biomarkers verzichtet.

5.2 Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums bei schwangeren und nicht schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt

Unter Nutzung der unter 4.4 erläuterten Cut-offs wurden die Prävalenzen des riskanten Alkoholkonsums jeweils für die Gruppe der Schwangeren sowie der Nicht-Schwangeren errechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt. Neben den errechneten Prävalenzen werden die genutzten Cut-offs sowie die in der dazugehörigen Literatur angegebenen Sensitivitäten und Spezifitäten dargestellt. Zusätzlich zu den Ergebnissen bezogen auf die einzelnen Biomarker wurden die Prävalenzen unter Anwendung aller drei Biomarker (mindestens ein erhöht gemessener Parameter, weiterhin als „kombinierte Prävalenz“ bezeichnet) berechnet. Aufgrund des bekannten physiologischen Anstieges des CDT im Verlauf der Schwangerschaft (Bakhireva et al. 2012) sowie der daraus abgeleiteten Empfehlung, den prozentualen Anteil des CDT am Gesamt-Transferrin (%CDT) zu berechnen (Kenan et al. 2011), wurden keine Prävalenzen unter alleiniger Nutzung der absoluten CDT-Konzentrationen berechnet.

Tabelle 3: Errechnete Prävalenzen des schädlichen Alkoholkonsums bei schwangeren und nicht-schwangeren Frauen auf der Basis Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker. p-Wert-Berechnung unter Nutzung des Chi²-Tests.

<u>Biomarker</u>	<u>Cut-off</u> <u>[Literatur]</u>	<u>Sens.</u> <u>(%)</u>	<u>Spez.</u> <u>(%)</u>	<u>Schwangere</u> <u>n = 2.182</u> <u>% (95%-KI)</u>	<u>Nicht-Schwangere</u> <u>n = 743</u> <u>% (95%-KI)</u>	<u>p-Wert</u>
%CDT	≥ 1,79 [2]	*	96,4	11,9 (10,5–13,2)	11,4 (9,2–13,7)	0,75
GGT U/l	≥ 40 [1]	33,0	96,4	2,1 (1,5–2,7)	8,1 (7,0–9,2)	< 0,001
GGT-CDT	≥ 3,80 [1]	33,5	98,0	0,5 (0,2–0,7)	3,8 (2,4–5,1)	< 0,001
kombinierte Prävalenz**	%CDT: ≥ 1,79 GGT: ≥ 40 GGT-CDT: ≥ 3,80	-	-	13,8 (12,4–15,2)	18,6 (15,8–21,4)	0,002

* Die Sensitivität war abhängig davon, ob ein Kind mit (39,5 %) oder ohne FAS (4,2 %) geboren wurde.

** Mindestens ein erhöht gemessener Parameter

[1] Niemelä et al. 2016a, [2] Niemelä et al. 2016b

Unter alleiniger Nutzung des %CDT zeigt sich ein statistisch nicht signifikanter Unterschied zwischen den errechneten Prävalenzen beider Kohorten. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Prävalenzen der GGT, des GGT-CDT sowie der kombinierten Prävalenz deutlich. Es zeigen sich jeweils deutlich höhere Prävalenzen in der Gruppe der nicht-schwangeren Frauen gegenüber den schwangeren Frauen.

5.3 Aufschlüsselung der aufgetretenen Konstellationen mindestens eines erhöht gemessenen Biomarkers bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt

Zur differenzierten Betrachtung der Schwangeren mit mindestens einem erhöht gemessenen Biomarker wurden alle aufgetretenen Konstellationen erfasst. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt. Hierbei werden die absoluten Zahlen der schwangeren Frauen mit der jeweiligen Konstellation sowie der dazugehörige prozentuale Anteil an allen Frauen innerhalb der jeweiligen Gruppe mit mindestens einem erhöht gemessenen Biomarker dargestellt.

Tabelle 4: Aufschlüsselung der aufgetretenen Konstellationen mindestens eines erhöht gemessenen Biomarkers bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt

<u>Konstellation</u>	<u>Schwangere Frauen</u> n = 2.182 (Anzahl (%))	<u>Nicht-Schwangere Frauen</u> n = 743 (Anzahl (%))
isoliertes %CDT ($\geq 1,79$ %)	256 (85,0)	76 (55,0)
isolierte GGT (≥ 40 U/l)	35 (11,6)	34 (24,6)
isoliertes GGT-CDT ($\geq 3,80$)	0 (-)	0 (-)
GGT + GGT-CDT erhöht	7 (2,4)	19 (13,8)
%CDT + GGT-CDT erhöht	0 (-)	2 (1,5)
%CDT + GGT + GGT-CDT erhöht	3 (1,0)	7 (5,1)
Summe	301 (100,0)	138 (100,0)
kombinierte Prävalenz* (95%-KI)	13,8 (12,4–15,2)	18,6 (15,8–21,4)

* Mindestens ein erhöht gemessener Parameter

Auffällig ist der hohe Anteil an Frauen mit isoliert erhöhtem %CDT. In der Gruppe der schwangeren Frauen macht diese Konstellation allein 85 % aller Frauen mit mindestens einem erhöht gemessenen Biomarker aus. Auch in der Gruppe der nicht-schwangeren Frauen ist das isoliert erhöhte %CDT die häufigste Konstellation, aber mit 55 % deutlich weniger häufig als in der Gruppe der schwangeren Frauen. Auf mögliche Ursachen dieser Beobachtung wird in der Diskussion unter 6.5 detaillierter eingegangen.

5.4 Trimester-spezifische Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums und Trimester-spezifische Veränderungen der Biomarker bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt

Nachfolgend werden die einzelnen Parameter (%CDT, GGT und GGT-CDT) in Abhängigkeit der drei Trimester der Schwangerschaft betrachtet. Die Trimester-spezifischen Prävalenzen sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Errechnete Trimester-spezifische Prävalenzen (95%-Konfidenzintervall) des schädlichen Alkoholkonsums bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt

<u>Biomarker</u>	<u>Cut-off</u>	<u>Erstes Trimester</u> n = 1.356 % (95%-KI)	<u>Zweites Trimester</u> n = 551 % (95%-KI)	<u>Drittes Trimester</u> n = 275 % (95%-KI)
%CDT	≥ 1,79	7,2 (5,8–8,6)	20,9 (17,5–24,3)	17,1 (12,6–21,6)
GGT U/l	≥ 40	2,9 (2,0–3,8)	0,5 (0,0–1,1)	1,1 (0,0–2,3)
GGT-CDT	≥ 3,80	0,7 (0,3–1,1)	0,2 (0,0–0,6)	0,0 (-)

Es zeigen sich jeweils unterschiedliche Prävalenzen des schädlichen Alkoholkonsums in Abhängigkeit der Trimester. Bezüglich des %CDT zeigt sich ein deutlicher Anstieg der Prävalenz vom ersten zum zweiten Trimester, während die Prävalenz im zweiten und dritten Trimester vergleichbar ist. Für die GGT und das GGT-CDT zeigt sich ein entgegengesetztes Bild. Beide Biomarker zeigen im ersten Trimester deutlich höhere Prävalenzen als im weiteren Verlauf der Schwangerschaft. Die möglichen Gründe dieser diametralen Unterschiede zwischen den Biomarkern werden in der Diskussion unter 6.5 adressiert. Zur besseren Visualisierung der Ergebnisse folgt die Darstellung der Messergebnisse der drei Biomarker (%CDT, GGT und GGT-CDT) in Abhängigkeit vom Trimester als Boxplots (Abbildungen 6, 7 und 8). Zusätzlich sind die Messergebnisse der nicht-schwangeren Frauen zum Vergleich in jedem Boxplot ergänzt.

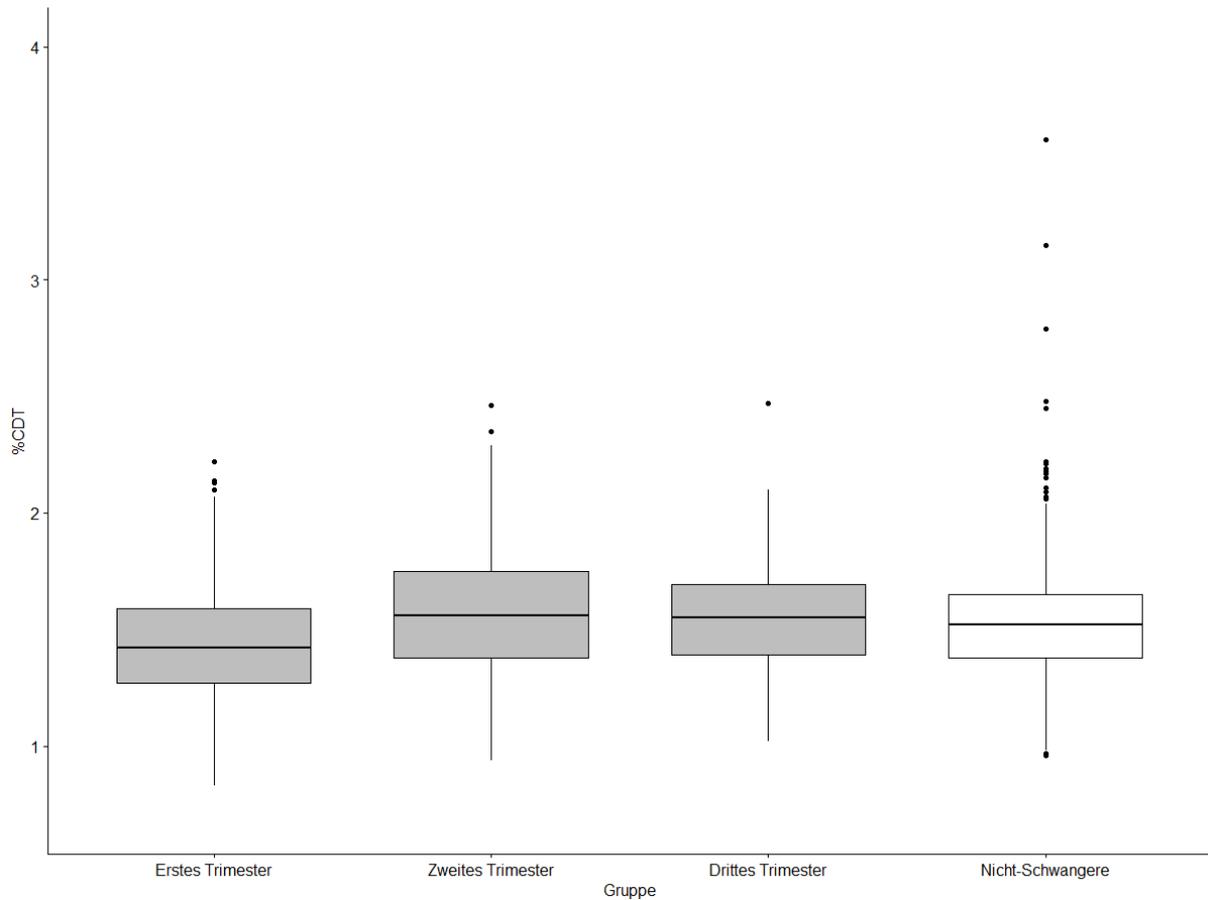


Abbildung 6: Messergebnisse des %CDT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen. Dargestellt werden der Median, der Inter-Quartil-Abstand (25.-75. Perzentile) sowie die „Whiskers“ (deren Ende ist der letzte Datenpunkt der das 1,5-fache des Inter-Quartil-Abstandes von der 25. bzw. 75. Perzentile entfernt ist). Ausreißer werden als Punkte dargestellt.

Man erkennt einen deutlichen Anstieg der %CDT-Messwerte zwischen dem ersten und dem zweiten Trimester. Die Höhe der Messungen zwischen dem zweiten und dritten Trimester sowie den nicht-schwangeren Frauen unterscheidet sich nur marginal.

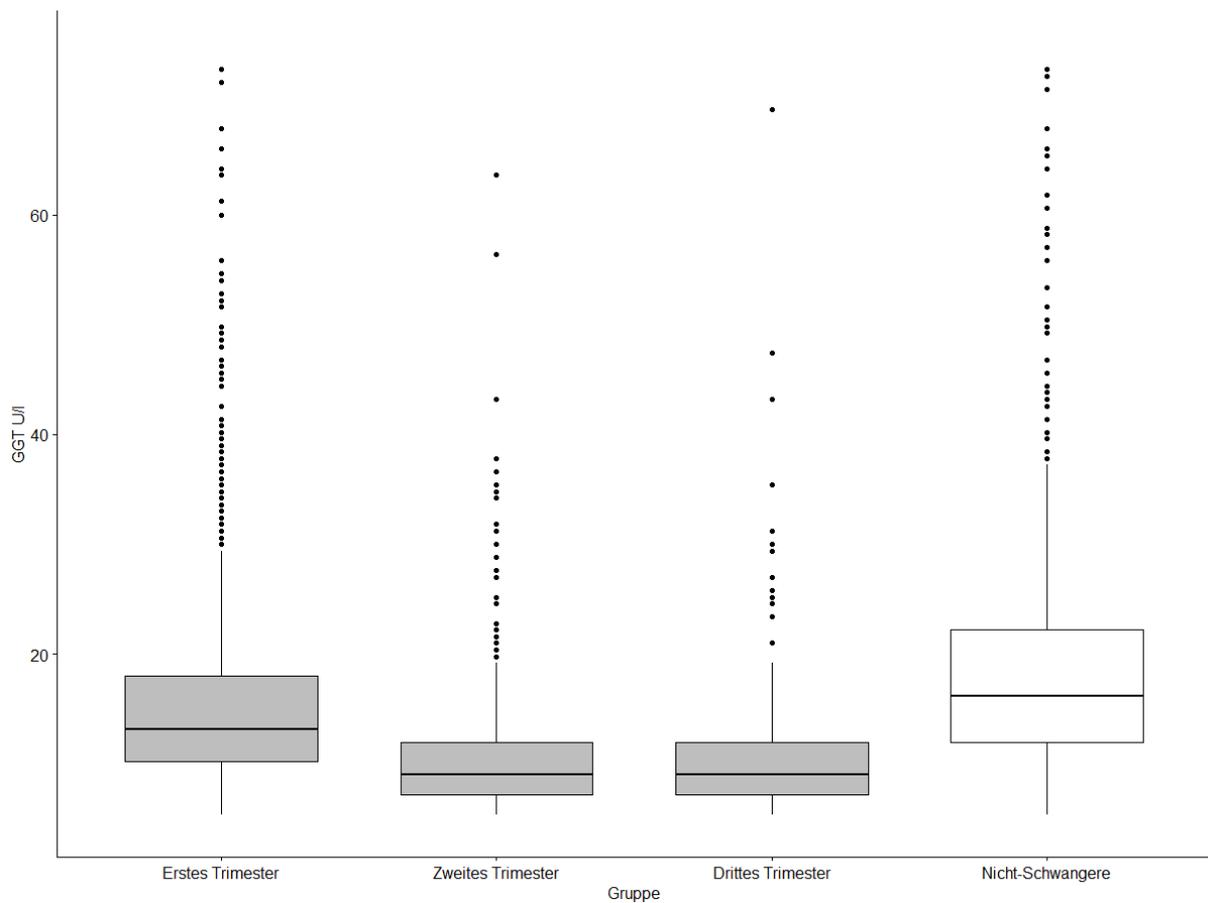


Abbildung 7: Messergebnisse der GGT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen. Datendarstellung siehe Legende Abbildung 6.

Bezüglich der GGT sieht man eine deutliche Reduktion der GGT-Messwerte zwischen dem ersten und zweiten Trimester sowie nahezu identische Messergebnisse zwischen dem zweiten und dritten Trimester. Im Vergleich zu den nicht-schwangeren Frauen erreichen vor allem die Werte des ersten Trimesters ähnlich hohe Messwerte. Der Median in der Gruppe der Frauen im ersten Trimester liegt allerdings unter dem Median der nicht-schwangeren Frauen.

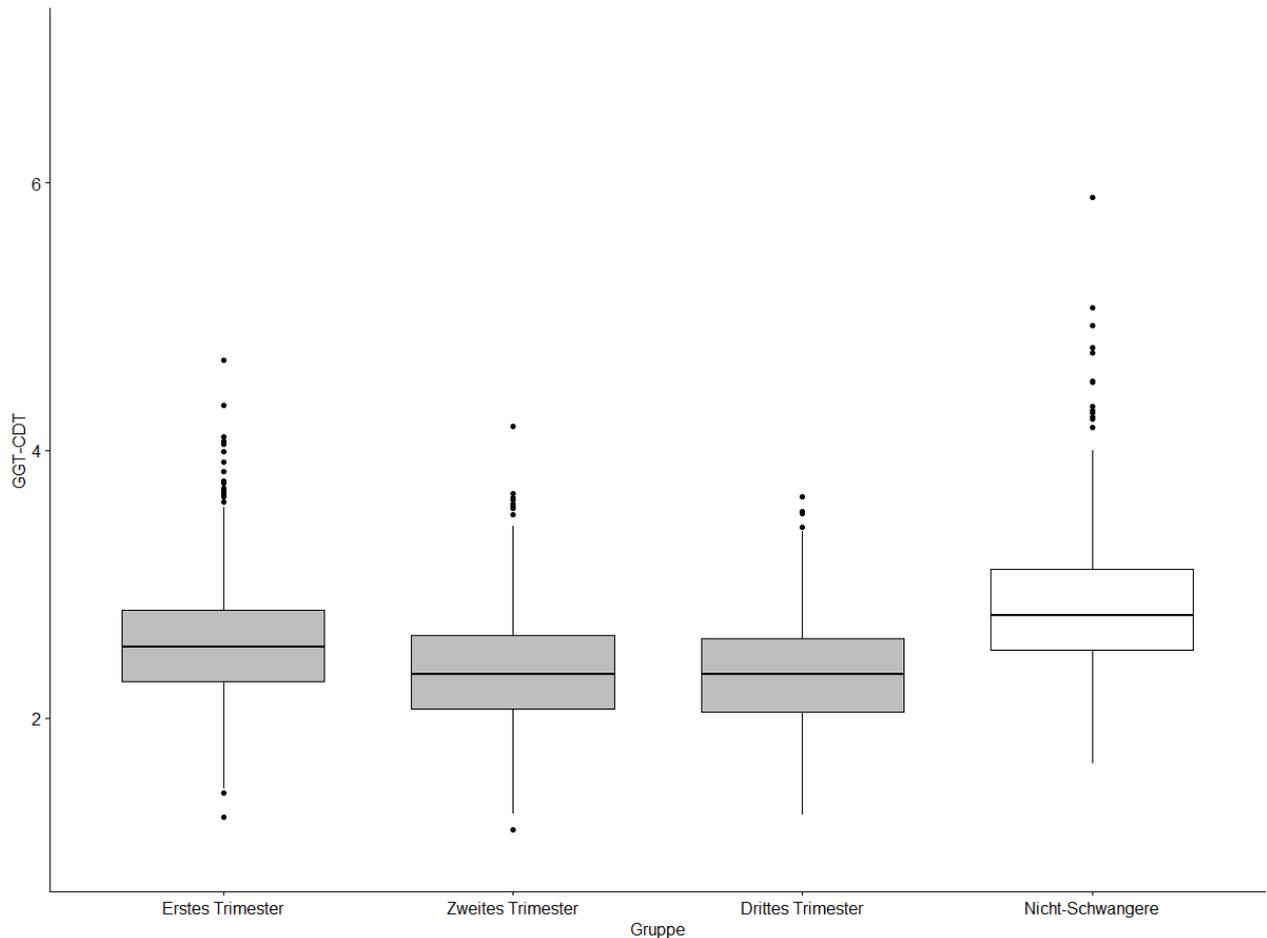


Abbildung 8: Messergebnisse des GGT-CDT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen. Datendarstellung siehe Legende Abbildung 6.

Der kombinierte Biomarker GGT-CDT zeigt ein sehr ähnliches, jedoch in seiner Ausprägung geringer ausfallendes Muster der Veränderung der Messwerte in den vier Gruppen.

Zur Beurteilung der statistischen Signifikanz der Unterschiede zwischen den Gruppen wurde zwischen allen Kohorten ein Mann-Whitney-U-Test mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Die Mittelwerte der Biomarker in den jeweiligen Gruppen sind in Tabelle 6 und die errechneten p-Werte der Mittelwertvergleiche zwischen den Gruppen in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 6: Mittelwerte (Standardabweichung) der Biomarker in den vier Gruppen

<u>Biomarker</u>	<u>1. Trimester</u>	<u>2. Trimester</u>	<u>3. Trimester</u>	<u>Nicht-Schwangere</u>
%CDT	1,43 (0,23)	1,57 (0,26)	1,55 (0,23)	1,53 (0,24)
GGT U/l	15,9 (10,7)	10,5 (6,3)	10,5 (6,8)	22,5 (35,4)
GGT-CDT	2,55 (0,42)	2,35 (0,43)	2,33 (0,43)	2,84 (0,49)

Die Mittelwerte spiegeln die in den Boxplots ersichtlichen Veränderungen in den Medianen mit hoher Ähnlichkeit wider. Sie zeigen den Anstieg des %CDT vom ersten zum zweiten Trimester, sowie die vergleichbaren Mittelwerte zwischen dem zweiten und dritten Trimester sowie den Nicht-Schwangeren. Bezüglich der GGT und des GGT-CDT zeigen die Mittelwerte analog den Medianen eine Reduktion vom ersten zum zweiten Trimester sowie Mittelwerte auf einem ähnlichen Niveau zwischen dem zweiten und dritten Trimester. Jedoch bleiben alle Mittelwerte der GGT und des GGT-CDT der schwangeren Frauen unter dem Niveau der nicht-schwangeren Frauen.

Tabelle 7: p-Werte für den Vergleich der Mittelwerte zwischen allen vier Gruppen

<u>Biomarker</u>	<u>Trimester</u> <u>1 vs. 2</u>	<u>Trimester</u> <u>2 vs. 3</u>	<u>Trimester</u> <u>1 vs. 3</u>	<u>Trimester 1</u> <u>vs. Nicht-</u> <u>Schwangere</u>	<u>Trimester 2</u> <u>vs. Nicht-</u> <u>Schwangere</u>	<u>Trimester 3</u> <u>vs. Nicht-</u> <u>Schwangere</u>
%CDT	< 0,001	1	< 0,001	< 0,001	0,02	0,52
GGT U/l	< 0,001	1	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
GGT-CDT	< 0,001	1	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Die in Tabelle 6 gezeigten Unterschiede zwischen den Gruppen stellen sich als statistisch signifikant heraus und bestätigen so die in den Boxplots ersichtlichen Veränderungen der Biomarker in Abhängigkeit des Schwangerschaftstrimesters sowie die beobachteten Unterschiede zwischen schwangeren und nicht-schwangeren Frauen.

5.5 Veränderung des CDT im Verlauf der Schwangerschaft

Aufgrund des Trimester-spezifischen Anstieges der Prävalenzen des %CDT erfolgt eine weitere Analyse der zur Berechnung des %CDT zugrunde liegenden Messwerte des CDT. In Abbildung 9 ist die Veränderung des CDT in den vier Gruppen dargestellt.

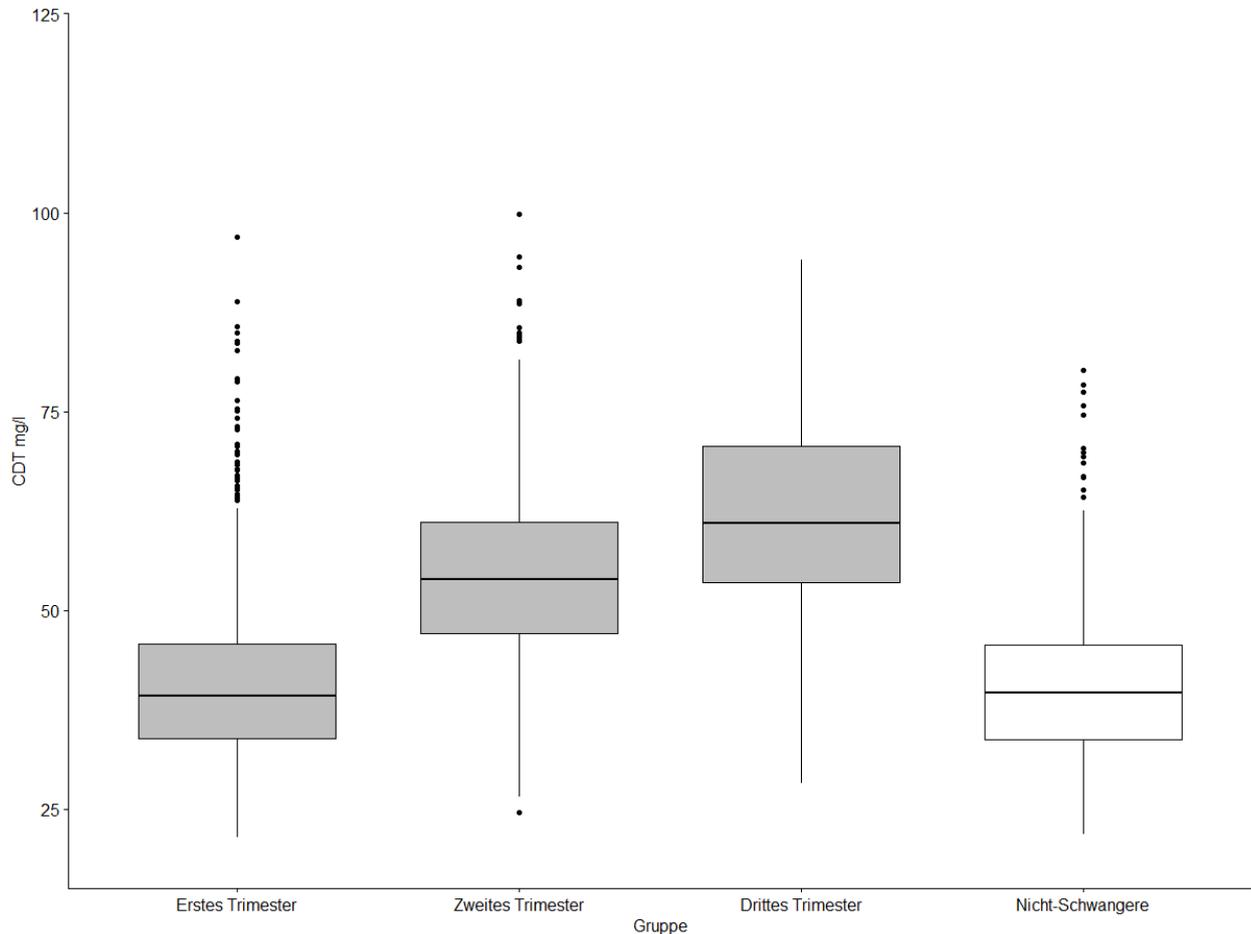


Abbildung 9: Messergebnisse des CDT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen. Datendarstellung siehe Legende Abbildung 6.

Im Boxplot erkennt man deutlich den im Schwangerschaftsverlauf bereits in verschiedenen Arbeiten beschriebenen Anstieg des CDT (Bakhireva et al. 2012). Ein potenzieller Einfluss dieses Anstieges auf die berechneten Werte des %CDT wird unter 6.5 ausführlicher diskutiert.

5.6 Veränderung des %CDT im Verlauf bei Schwangeren mit initial auffälligen Messwerten

Neben der Berechnung der Prävalenz des riskanten Alkoholkonsums in der Schwangerschaft war eine weitere Zielstellung dieser Arbeit die Überprüfung des longitudinalen Verlaufes des %CDT bei schwangeren Frauen mit einem initial erhöhten Messergebnis des %CDT. Die Ergebnisse sind in Abbildung 10 dargestellt.

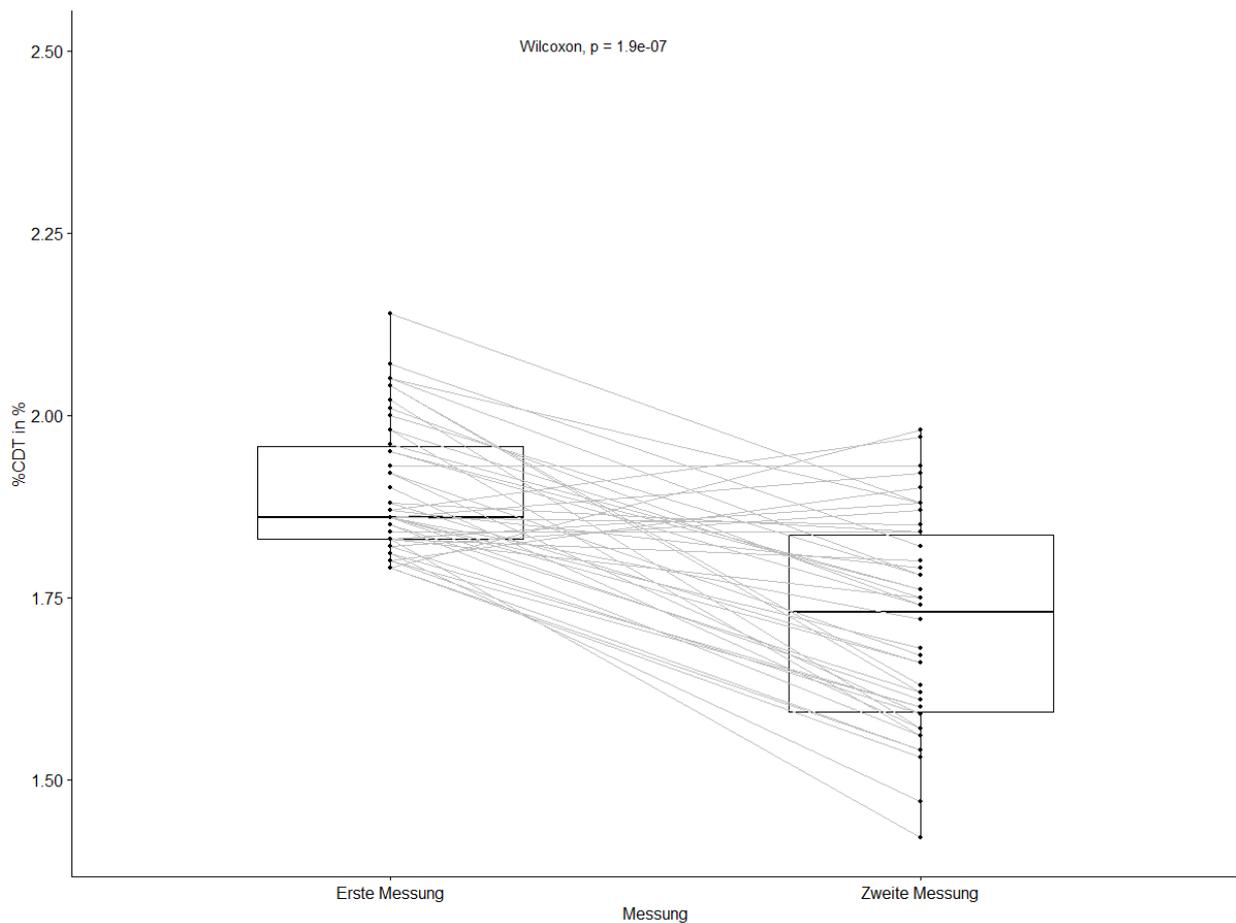


Abbildung 10: Verlauf des %CDT für 46 Schwangere mit initial erhöhtem %CDT-Messwert. Die beiden Messungen jeder Schwangeren sind mit einer grauen Linie verbunden. Zur Überprüfung der statistischen Signifikanz wurde ein Wilcoxon-Test für paarweise Vergleiche durchgeführt.

Bei einem Großteil der schwangeren Frauen zeigt sich eine deutliche Reduktion der Höhe der Messergebnisse zwischen der ersten und der zweiten Messung. Der Wilcoxon-Test zeigt ein statistisch hochsignifikantes Ergebnis. Die kritische Diskussion dieser Ergebnisse wird unter 6.6 geführt.

6 Diskussion

Nachfolgend sollen die Ergebnisse unter Berücksichtigung der Stärken und Schwächen der hier vorliegenden Studie sowie im Vergleich zu bereits publizierten Ergebnissen anderer wissenschaftlicher Arbeiten kritisch diskutiert werden.

6.1 Möglichkeiten und Grenzen des zugrunde liegenden Studiendesigns

Die größte Stärke der hier publizierten Daten liegt in der Größe der zugrunde liegenden Datenbasis. Nur wenige der bisherigen Studien zur Ermittlung der Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft auf Basis von Biomarkern erreichen mehr als 1.000 Studienteilnehmer (zum Vergleich: Stoler et al. 1998: n = 529; Shipton et al. 2013: n = 125; Sarkola et al. 2000: n = 44; Howlett et al. 2020: n = 600). Als weitere Stärke ist die Verwendung von Messmethoden und Testkits zu nennen, für die bereits entsprechende Cut-offs publiziert worden sind. Somit kann sichergestellt werden, dass die Cut-offs für die verwendete Methodik auch zutreffend sind, was letztendlich die Gefahr einer Über- oder Unterschätzung der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft aufgrund nicht zur Methodik passender Cut-offs minimiert. Darüber hinaus erfolgte die Messung immer im selben Labor, sodass auch präanalytische Gegebenheiten für alle gemessenen Proben als übereinstimmend angesehen werden können. Bezieht man den in dieser Arbeit bereits mehrfach angesprochenen „Selection-Bias“ bei der Frage um Einverständnis zur Teilnahme an einer solchen Studie mit ein, so liegt ein Vorteil des zugrunde liegenden Studiendesigns auch darin, dass aufgrund der Pseudoanonymisierung der Messungen und dem durch die Ethikkommission als zulässig bewerteten Nicht-Einholen einer Einverständniserklärung das Risiko einer Nicht-Teilnahme von Frauen, die Alkohol in der Schwangerschaft konsumieren und aufgrund der gesellschaftlichen Stigmatisierung eine Teilnahme verneinen würden, ebenfalls minimiert wird.

Trotzdem sollte die untersuchte Kohorte in Bezug auf die Vergleichbarkeit mit der Grundgesamtheit der schwangeren Frauen kritisch betrachtet werden. Die Auswahl der Proben erfolgte, wie unter 4.2.1 ausgeführt, aus den Toxoplasma-gondii-Serologie Back-up-Proben. Die Untersuchung auf Toxoplasma-gondii-Antikörper in der Schwangerschaft ist keine durch die Krankenkassen übernommene Laborleistung. Dementsprechend ist nicht auszuschließen, dass es unter den Frauen, die eine solche serologische Untersuchung während der Schwangerschaft selbst bezahlen, nicht einen höheren Anteil an Frauen gibt,

die im Vergleich zur Grundgesamtheit aufgrund eines ausgeprägteren Gesundheitsbewusstseins auch weniger Alkohol konsumieren. Eine weitere wichtige Einschränkung der Aussagekraft dieser Studie ist die Tatsache, dass ein direkter Zusammenhang zwischen den gemessenen Alkoholkonsum-assoziierten Biomarkern und den eventuell nach Konsum auftretenden Ausprägungen der Gesundheitsstörungen der Neugeborenen bzw. Kinder im Rahmen einer FASD oder eines FAS bisher nicht eindeutig gezeigt werden konnte. Dementsprechend wäre ein Vergleich der in dieser Studie errechneten Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft mit den beobachteten Prävalenzen der FASD und des FAS mit Vorsicht zu führen.

6.2 Vergleich der kombinierten Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft mit Publikationen basierend auf Fragebögen

Wie in der Einführung dieser Arbeit bereits erwähnt, publizierte Popova et al. 2017 ein großes systematisches Review, das die nationale, regionale und globale Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft sowie des FAS untersuchte. Hierbei wurden initial über 23.000 Studien aus verschiedenen Datenbanken extrahiert. Letztendlich wurden hiervon 328 Studien in die Analyse einbezogen, was die Schwierigkeit einer methodologisch hochkarätigen Studie zu dieser Forschungsfrage eindrucksvoll vor Augen führt (Popova et al., 2017). In dieser Studie wurde eine globale Prävalenz des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft von 9,8 % (95%-KI: 8,9–11,1) errechnet. Für Europa schätzte die Studie eine weitaus höhere Prävalenz von 25,2 % (95%-KI: 21,6–29,6). Diese Zahl für Europa liegt ungefähr in dem Bereich, den die GEDA-Studie des RKI von 2012 anführt. Hier wurde eine Prävalenz des moderaten Alkoholkonsums in der Schwangerschaft von 19,8 % (95%-KI: 15,6–24,7) gefunden. Vergleichen wir die in der hier vorliegenden Studie errechnete Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums mit den Daten dieser beiden Studien, so fällt die Prävalenz mit 13,8 % für die kombinierte Prävalenz von mindestens einem erhöht gemessenen Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker deutlich geringer aus. Dies ist vor allem dem Grund geschuldet, dass die beiden zum Vergleich herangezogenen Studien hauptsächlich Fragebögen als Methode zur Erfassung des Alkoholkonsums in der Schwangerschaft verwenden. Die Studie von Popova et al. betrachtete also nicht nur den durch Biomarker messbaren schädlichen Alkoholkonsum, sondern jegliche Menge an konsumiertem Alkohol. Dementsprechend ist bei wahrheitsgetreuer Beantwortung der

Fragebögen eine höhere Prävalenz zu erwarten, da auch geringere Mengen an konsumiertem Alkohol als die in der hier vorliegenden Studie festgelegten 40 g Ethanol pro Tag für mindestens 7 Tage erfasst werden. Gleiches gilt für die ermittelte Prävalenz von 19,8 % in der GEDA-Studie des RKI. Betrachten wir dagegen die Prävalenz des riskanten Alkoholkonsums (mehr als 12 g Ethanol pro Tag), so findet die GEDA-Studie eine geringere Prävalenz von 7,8 % (95%-KI: 4,7–12,6). Dieser Wert liegt wiederum deutlich geringer als die in der hier vorliegenden Studie errechnete Prävalenz. Inwieweit ein „Selection-Bias“ aufgrund der Einverständniserklärung der Schwangeren und der möglichen nicht-wahrheitsgemäßen Angaben bezüglich eines Alkoholkonsums Auswirkungen auf die errechneten Prävalenzen hat, kann nicht festgestellt werden. Die niedrigere Prävalenz des riskanten Alkoholkonsums im Vergleich zur in der vorliegenden Studie errechneten Prävalenz wirft Fragen auf, da die genutzten Cut-offs nur schädlichen Alkoholkonsum (mehr als 40 g Ethanol pro Tag für mindestens 7 Tage) und dementsprechend nur geringfügig oder sogar gar nicht geeignet sind, um einen riskanten Alkoholkonsum (mehr als 12 g Ethanol pro Tag) zu erfassen. Gründe für die Diskrepanz der Werte liegen darüber hinaus neben der unterschiedlichen Methodik wahrscheinlich auch in der Physiologie des CDT in der Schwangerschaft. Im Falle der kombinierten Prävalenz fällt dabei der große Anteil von 85 % von isoliert erhöhten %CDT-Werte auf. Wie unter 5.4 und 5.5 dargestellt, steigt auch das %CDT im Verlauf der Schwangerschaft an, sodass diskutiert werden muss, ob dieser physiologische Anstieg bei einem feststehenden Cut-off und einer nur eventuell unzureichenden Korrektur durch Berechnung des %CDT falsch-hohe Messergebnisse und somit eine falsch-hohe Prävalenz erzeugt. Dieser Sachverhalt wird unter 6.5 ausführlicher betrachtet.

6.3 Vergleich der kombinierten Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft mit Publikationen basierend auf Messungen von Biomarkern

Aufgrund der unter 6.2 erläuterten eingeschränkten Vergleichbarkeit von Studienergebnissen, die auf Basis von Fragebögen gewonnen wurden, mit Studienergebnissen, die auf Basis der Messung von Biomarker erhoben wurden, liegt es nahe, Studienergebnisse auf Basis der gleichen Methodik miteinander zu vergleichen. So hat Howlett et al. 2020 die Prävalenz des Alkoholkonsums in Nord-Ost-England anhand der Messung von %CDT und GGT in 600 Serum-Proben von schwangeren Frauen untersucht

(Howlett et al., 2020). Aufgrund der zufälligen Auswahl der Proben innerhalb des „The North Tees and Hartlepool NHS Foundation Trust“ in dieser Studie, kann die untersuchte Kohorte als repräsentativ für die Grundgesamtheit der dort lebenden schwangeren Frauen angesehen werden. Interessanterweise findet diese Studie eine Prävalenz von erhöht gemessenen %CDT-Werten von nur 1,7 % (95%-KI: 0,7–2,9) und liegt damit deutlich niedriger als die in der hier vorliegenden Studie errechnete Prävalenz erhöht gemessener %CDT-Werte von 11,9 % (95%-KI: 10,5–13,2). Grund hierfür kann die unterschiedliche Messmethodik sein. Die Arbeitsgruppe um Howlett et al. nutzten keine immunologische Methode zur Messung des CDT, sondern führten die Messung mittels High-Pressure-Liquid-Chromatography (HPLC) durch. Allerdings unterscheiden sich die errechneten Prävalenzen so stark, dass die unterschiedliche Messmethodik nicht als einziger Grund angesehen werden kann. Diese Unterschiede sollten in weiterführenden Studien untersucht werden.

Bezüglich der GGT-Messung errechnete sich in der Arbeit von Howlett et al. eine Prävalenz von 4,2 % (95%-KI: 2,6–5,9) erhöhter GGT-Messwerte. Diese Prävalenz zeigt sich im Vergleich zur in der vorliegenden Arbeit ermittelten Prävalenz erhöhter GGT-Messwerte als höher. Auch dieser Umstand verwundert, da der angewendete Cut-off in der Studie von Howlett et al. mit 45 U/L etwas höher lag. Worauf diese Unterschiede zurückzuführen sind, kann in dieser Arbeit nicht beantwortet werden und zeigt eindrucksvoll die Schwierigkeit der Ableitung des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft allein aus der Messung Alkoholkonsum-assoziiertes Biomarker.

6.4 Vergleich der Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft basierend auf erhöhten GGT-CDT-Werten mit den Zahlen des Fehlbildungsmonitorings Sachsen-Anhalt sowie Zahlen für Deutschland

Das Fehlbildungsmonitoring Sachsen-Anhalt erfasst die verschiedensten angeborenen Fehlbildungen neugeborener Kinder in Sachsen-Anhalt. Eine Analyse der Zahlen der Neugeborenen mit Wachstumsretardierung und/oder Microcephalus im Zeitraum von 2000–2009 schätzt eine Zahl von ca. 100 betroffenen Kindern pro Jahr in Sachsen-Anhalt sowie ca. 4.000 betroffenen Kindern pro Jahr in Deutschland (Rissmann et al., 2014). Hierbei ist einschränkend zu sagen, dass ein Alkoholkonsum der Mutter während der Schwangerschaft nicht der einzige Grund für eine Wachstumsretardierung bei Geburt bzw.

einen Microcephalus ist. Dementsprechend handelt es sich bei den ca. 100 Betroffenen wahrscheinlich nicht allein um Fälle einer FASD bzw. eines FAS.

Kraus et al. publizierten 2019 geschätzte Inzidenzen der FASD und des FAS (Kraus et al., 2019). Hierbei ergab sich für die FASD eine Anzahl von 12.650 betroffenen Kindern im Jahr 2014 in Deutschland (95%-KI: 9.650–23.310) sowie für das FAS eine Anzahl von 2.930 betroffenen Kindern im Jahr 2014 in Deutschland (95%-KI: 1.720–4.500).

Legt man die in der hier vorliegenden Arbeit errechneten Prävalenzraten erhöhter GGT-CDT-Werte (als Biomarker mit der höchsten Spezifität, also der niedrigsten Rate an falsch-positiven Befunden) von 0,5 % (95%-KI: 0,2–0,7) zugrunde, so wären für Sachsen-Anhalt im Jahr 2019 mit ca. 83 Kindern (0,5 % von 16.618 Lebendgeburten, 95%-KI: 33–116) zu rechnen, die von einem schädlichen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft betroffen wären. Für Deutschland würde sich eine Zahl von ca. 3.891 betroffenen Kindern (0,5 % von 778.100 Lebendgeburten, 95%-KI: 1.556–5.447) ergeben. Diese Zahlen passen zu den Zahlen des Fehlbildungsmonitorings Sachsen-Anhalt sowie zur Arbeit von Kraus et al. Letztendlich muss dieser Vergleich aber mit äußerster Vorsicht bewertet werden, da wie bereits unter 6.1 erwähnt ein direkter Zusammenhang zwischen den gemessenen Alkoholkonsum-assoziierten Biomarkern und den eventuell nach Konsum auftretenden Ausprägungen der Gesundheitsstörungen der Neugeborenen bzw. Kinder im Rahmen einer FASD oder eines FAS bisher nicht eindeutig gezeigt werden konnte.

6.5 Physiologischer Anstieg des CDT sowie unzureichende Korrektur durch das %CDT

Dass das Verhalten des CDT bzw. %CDT in der Schwangerschaft bisher nicht konsistent herausgearbeitet werden konnte, wurde bereits unter 3.6.1 ausgeführt. Aufgrund der in Tabelle 5 dargestellten Trimester-spezifischen Prävalenzen des %CDT, die einen Anstieg vom ersten zum zweiten Trimester sowie eine vergleichbare Prävalenz zwischen dem zweiten und dritten Trimester und den nicht-schwangeren Frauen zeigen, wurde das CDT als Basis der Berechnung des %CDT im Verlauf der Schwangerschaft genauer betrachtet. Hierbei zeigte sich der in Abbildung 9 dargestellte Anstieg des CDT im Schwangerschaftsverlauf. Die hier vorliegende Arbeit kann somit den Anstieg des CDT im Verlauf der Schwangerschaft analog der Arbeiten von Bianchi et al. und Bakhireva et al. bestätigen (Bianchi et al., 2011; Bakhireva et al., 2012). Betrachtet man nun das aus dem CDT berechnete %CDT, so ergibt

sich der in Abbildung 6 gezeigte Anstieg des %CDT vom ersten zum zweiten Trimester sowie die vergleichbaren %CDT-Messwerte zwischen dem zweiten und dritten Trimester und den nicht-schwangeren Frauen. Dies legt nahe, dass eine Berechnung des prozentualen Anteils des CDT am Gesamt-Transferrin keine ausreichende Korrektur in der Schwangerschaft ermöglicht. Auch der hohe Anteil der isoliert erhöhten %CDT-Messwerte innerhalb der kombinierten Prävalenz ist somit erklärbar. Dies bringt das Problem mit sich, dass bei Anwendung eines über das gesamte Schwangerschaftsalter gleichbleibenden Cut-offs die Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums auf Basis vermehrt falsch-positiver %CDT-Messergebnisse überschätzt wird. Dementsprechend ist die Etablierung von Trimester-spezifischen Referenzintervallen für das %CDT wünschenswert. Neben dem Goldstandard der Etablierung von Referenzintervallen anhand der Messung des Biomarkers an „offensichtlich gesunden“ (in diesem Fall abstinenten) schwangeren Frauen, besteht die Möglichkeit der Berechnung von Referenzintervallen unter Nutzung von indirekten Referenzintervall-Überprüfungsmethoden, wie 2015 von Hoffmann et al. vorgeschlagen (Hoffmann et al. 2015).

6.6 Aussagekraft der longitudinalen Messungen

Im longitudinalen Anteil der hier vorliegenden Studie wurden von 46 Schwangeren, die in der ersten Messung erhöhte %CDT-Messergebnisse zeigten, Folgeproben gemessen. Wie in Abbildung 10 dargestellt, zeigten sich bei einem Großteil der Frauen niedrigere %CDT-Messergebnisse in der Folgeprobe. Dies legt den Schluss nahe, dass Frauen ihren Alkoholkonsum im Verlauf der Schwangerschaft reduzieren. Diese Aussage ist allerdings mit Vorsicht zu betrachten, da es in dieser Teil-Studie keine Kontrollgruppe von schwangeren Frauen ohne erhöhte initiale %CDT-Messergebnisse gibt. Während die Messungen der initialen Proben in verschiedenen Messläufen erfolgten, wurden die Folgeproben in einem einzigen Messlauf untersucht. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Folgeproben nicht aufgrund eines generell niedrigeren Messniveaus des Tests an diesem Analysetag etwas niedriger ausfallen. Allerdings unterstützt der in der hier vorliegenden Studie beobachtete Anstieg des CDT und der mittleren %CDT-Werte im Verlauf der Schwangerschaft die Annahme, dass eine Reduktion der %CDT-Werte im Verlauf eher auf eine Änderung des Alkoholkonsumverhaltens als auf eine Messunsicherheit zurückzuführen ist.

7 Zusammenfassung

In der hier vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die aus singulären Messungen Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker errechnete Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums stark vom jeweils genutzten Biomarker und den jeweils angewendeten Cut-offs abhängig ist. Letztendlich zeigt dies die Schwierigkeit, die Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft alleinig mittels der Messung von Biomarkern zuverlässig zu bestimmen. Darüber hinaus ist eine Berechnung der Prävalenz der FASD bzw. des FAS auf der Basis der Messung von Alkoholkonsum-assozierten Biomarkern nach wie vor schwierig und muss kritisch betrachtet werden.

Weiterhin konnte der bereits in anderen Publikationen berichtete Anstieg des CDT im Verlauf der Schwangerschaft bestätigt werden.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Korrektur des CDT mithilfe der Berechnung des %CDT in der Schwangerschaft keine ausreichende Korrektur erzielt und somit die Möglichkeit falsch-positiver Befunde besteht, die sich in einer falsch-hohen Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft niederschlagen können. Dementsprechend sollten mindestens Trimester-spezifische Referenzintervalle für das %CDT etabliert werden.

Trotz der gut zu den bisher publizierten Zahlen der FASD und des FAS in Deutschland passenden Zahlen der hier vorliegenden Arbeit müssen die gewonnenen Erkenntnisse aufgrund des fehlenden evidenzbasierten Zusammenhanges zwischen erhöht gemessenen Alkoholkonsum-assozierten Biomarkern und den beobachtbaren Fehlbildungen und Gesundheitsstörungen im Rahmen einer FASD bzw. eines FAS kritisch interpretiert werden. Eine Nutzung Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker zur Untersuchung der Prävalenz der FASD und des FAS kann dementsprechend nicht empfohlen werden.

8 Literaturverzeichnis

1. Andresen-Streichert H et al. (2018) Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. *Deutsches Ärzteblatt International* 115:309-315
2. Anttila P et al. (2003) A New Modified γ -%CDT Method Improves the Detection of Problem Drinking: Studies in Alcoholics with or Without Liver Disease. *Clinica Chimica Acta* 338:45-51
3. Arndt T (2001) Carbohydrat-Deficient Transferrin as a Marker of Chronic Alcohol Abuse: A Critical Review of Preanalysis, Analysis, and Interpretation. *Clinical Chemistry* 47:13-27
4. Atzendorf J et al. (2019) The Use of Alcohol, Tobacco, Illegal Drugs and Medicines – An Estimate of Consumption and Substance-Related Disorders in Germany. *Deutsches Ärzteblatt International* 116:577-584
5. Bager H et al. (2017) Biomarkers for the Detection of Prenatal Alcohol Exposure: A Review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 41:251-261
6. Bakhireva LN et al. (2011) Focus on: Biomarkers of Fetal Alcohol Exposure and Fetal Alcohol Effects. *Alcohol Research & Health* 34:56-63
7. Bakhireva et al. (2012) Advanced Gestational Age Increases Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin Levels in Abstinent Pregnant Women. *Alcohol & Alcoholism* 47:683-687
8. Bathia S et al. (2019) Oxidative Stress and DNA Damage in the Mechanisms of Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Birth Defects Research* 111:714-748
9. Bergmann KE et al. (2007) Perinatale Einflussfaktoren auf die spätere Gesundheit. *Bundesgesundheitsblatt* 50:670-676
10. Bianchi V et al. (2011) Pregnancy and Variations of Carbohydrate-Deficient Transferrin Levels Measured by the Candidate Reference HPLC Method. *Alcohol & Alcoholism* 46:123-127
11. Brinkmann B et al. (2000) ROC Analysis of Alcoholism Markers – 100% Specificity. *International Journal of Legal Medicine* 113:293-299
12. Cook JD (2003) Biochemical Markers of Alcohol Use in Pregnant Women. *Clinical Biochemistry* 36:9-19
13. Delanghe JR et al. (2007) Development and Multicenter Evaluation of the N Latex CDT Direct Immunonephelometric Assay for Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin. *Clinical Chemistry* 53:1115-1121

14. Dettling A et al. (2017) Laborwerte bei Alkoholabstinenz und sozialen Alkoholtrinkgewohnheiten. *Rechtsmedizin* 27:510-515
15. Fleming MF et al. (2004) A Review of Genetic, Biological, Pharmacological, and Clinical Factors That Affect Carbohydrate-Deficient Transferrin Levels. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 28:1347-1355
16. GBD 2016 Risk Factors Collaborators (2017) Global, Regional, and National Comparative Risk Assessment of 84 Behavioural, Environmental, and Occupational, and Metabolic Risks or Clusters of Risks, 1990–2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet* 390:1345-422
17. Göransson M et al. (2003) Fetus at Risk: Prevalence of Alcohol Consumption During Pregnancy Estimated with a Simple Screening Method in Swedish Antenatal Clinics. *Addiction* 98:1513-1520
18. Hietala J et al. (2005) Serum Gamma-Glutamyl Transferase in Alcoholics, Moderate Drinkers and Abstainers: Effect of GT Reference Intervals at Population Level. *Alcohol & Alcoholism* 40:511-514
19. Hietala J et al. (2006) Comparison of the Combined Marker GGT-CDT and the Conventional Laboratory Markers of Alcohol Abuse in Heavy Drinkers, Moderate Drinkers, and Abstainers. *Alcohol & Alcoholism* 41:528-533
20. Hoffmann G et al. (2015) Ein einfaches Verfahren zur Schätzung von Referenzintervallen aus routinemäßig erhobenen Labordaten. *Journal of Laboratory Medicine* 39:389-402
21. Howlett H et al. (2017) How Strong is the Evidence for Using Blood Biomarkers Alone to Screen for Alcohol Consumption During Pregnancy? A Systematic Review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 213:45-52
22. Howlett H et al. (2020) Assessing the Prevalence of Alcohol Consumption in Early Pregnancy Using Blood Biomarker Analysis: A Consistent Pattern Across North-East England? *Journal of Public Health* 42:e74-e80
23. Johnson CS et al. (2007) Perturbation of Retinoic Acid (RA)-Mediated Limb Development Suggests a Role in Diminished RA Signaling in the Teratogenesis of Ethanol. *Birth Defects Research Part A Clinical and Molecular Teratology* 79:631-641
24. Kenan N et al. (2011) Changes in Transferrin Glycosylation During Pregnancy May Lead to False-Positive Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) Results in Testing for Riskful Alcohol Consumption. *Clinica Chimica Acta* 412:129-133
25. Kohler et al. (2014) New Insights in Carbohydrate-Deficient Transferrin Analysis with Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry. *Forensic Science International* 243:14-22

26. Kraus L et al. (2019) Quantifying Harms to Others Due to Alcohol Consumption in Germany: A Register-Based Study. *BMC Medicine* 17:59-67
27. Landgraf MN et al. S3-Leitlinie Diagnose der Fetalen Alkoholspektrumstörung FASD, AWMF-Registernummer 022-025, 01.02.2016
28. Lange S et al. (2017) Global Prevalence of Fetal Alcohol Spectrum Disorder Among Children and Youth. *Journal of the American Medical Association Pediatrics* 171:948-956
29. May PA et al. (2018) Prevalence of Fetal Alcohol Spectrum Disorder in 4 US Communities. *Journal of the American Medical Association* 319:474-482
30. Mitchell C et al. (1997) Carbohydrate-Deficient Transferrin in Detecting Relapse in Alcohol Dependence. *Drug and Alcohol Dependence* 48:97-103
31. Niemelä S et al. (2016a) Fetal Alcohol Syndrome and Maternal Alcohol Biomarkers in Sera: A Register-Based Case-Control Study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 40:1507-1514
32. Niemelä S et al. (2016b) Assays of Gamma-Glutamyl Transferase and Carbohydrate-Deficient Transferrin Combination from Maternal Serum Improve the Detection of Prenatal Alcohol Exposure. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 40:2385-2393
33. Parnell SE et al. (2019) Fetal Alcohol Spectrum Disorders: Mechanisms, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Birth Defects Research* 111:683-685
34. Popova S et al. (2017) Estimation of National, Regional, and Global Prevalence of Alcohol Use During Pregnancy and Fetal Alcohol Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Lancet Global Health* 5:e290-299
35. Pullarkat RK (1991) Hypothesis: Prenatal Alcohol-Induced Birth Defects and Retinoic Acid. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 15:565-567
36. Randell E et al. (1998) Changes in Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin and Gamma-Glutamyltransferase After Moderate Wine Consumption in Healthy Males. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 12:92-97
37. Rhinn M et al. (2012) Retinoic Acid Signalling During Development. *Development* 139:843-858
38. Rissman A et al. (2014) Annual Report 2013 of the Federal State of Saxony-Anhalt About Frequency of Congenital Malformations and Anomalies as well as Genetically Caused Diseases. Available at: http://www.monz.ovgu.de/monz_mm/Dokumente/Jahresberichte/Bericht2013_ENGLISCH.pdf

39. Sarkola T et al. (2000) Mean Cell Volume and Gamma-Glutamyl Transferase are Superior to Carbohydrate-Deficient Transferrin and Hemoglobin-Acetaldehyde Adducts in Follow-up of Pregnant Women with Alcohol Abuse. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 79:359-366
40. Schaller K et al. (2017) *Alkoholatlas Deutschland 2017*. Deutsches Krebsforschungszentrum
41. Schellenberg F et al. (2005) Dose-Effect Relation Between Daily Ethanol Intake in the Range 0 – 70 Grams and %CDT Value: Validation of a Cut-Off Value. *Alcohol & Alcoholism* 6:531-534
42. Shipton D et al. (2013) Monitoring Population Levels of Alcohol Consumption in Pregnant Women: A Case for Using Biomarkers. *Substance Use & Misuse* 48:569-573
43. Stauber RE et al. (1996) Carbohydrate-Deficient Transferrin in Healthy Women: Relation to Estrogens and Iron Status. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 20:1114-1117
44. Stibler H (1991) Carbohydrate-Deficient Transferrin in Serum: A New Marker of Potentially Harmful Alcohol Consumption Reviewed. *Clinical Chemistry* 37:2029-2037
45. Stoler JM et al. (1998) The Prenatal Detection of Significant Alcohol Exposure With Maternal Blood Markers. *The Journal of Pediatrics* 133:346-352
46. Stranges S et al. (2004) Differential Effects of Alcohol Drinking Patterns on Liver Enzymes in Men and Women. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 278:949-956
47. Sulik KK (2014) Fetal Alcohol Spectrum Disorder: Pathogenesis and Mechanisms. *Handbook of Clinical Neurology* 125:463-475
48. Whitfield JB et al. (2001) Effects of Alcohol Consumption on Indices of Iron Status and of Iron Stores on Alcohol Intake Markers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 25:1037-1045
49. Zachmann RD et al. (1998) The Interaction of Ethanol and Vitamin A as a Potential Mechanism for the Pathogenesis of Fetal Alcohol Syndrome. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 22:1544-1556

weitere Quellen:

1. Antwort der Bundesregierung auf die Kleine Anfrage der Abgeordneten Frank Tempel, Birgit Wöllert, Jan Korte, weiterer Abgeordneter und der Fraktion DIE LINKE, Drucksache 18/3378, „Schädigung von Föten durch Alkoholkonsum während der Schwangerschaft“, 01.12.2014
2. Jean Boué, „Dass ich ganz allein daran die Schuld trage“, Zeitungs-Artikel in Die Zeit Wissen, 06.09.2018

9 Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abbildung 1: Isoformen des Transferrins in Abhängigkeit von den vorhandenen Kohlenhydratketten (aus Kohler et al., 2014)	15
Abbildung 2: Darstellung der Probenauswahl und der Anzahl der ausgeschlossenen Back-up-Proben	24
Abbildung 3: Histogramm der Altersverteilung der schwangeren Frauen.	26
Abbildung 4: Histogramm der Altersverteilung der nicht-schwangeren Frauen.	26
Abbildung 5: Darstellung der nach der Messung ausgeschlossenen Proben sowie der endgültigen in die Analyse einbezogenen Anzahl der Proben	29
Abbildung 6: Messergebnisse des %CDT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen	36
Abbildung 7: Messergebnisse der GGT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen	37
Abbildung 8: Messergebnisse des GGT-CDT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen	38
Abbildung 9: Messergebnisse des CDT in Abhängigkeit vom Schwangerschaftstrimester sowie Vergleich mit den nicht-schwangeren Frauen	40
Abbildung 10: Verlauf des %CDT für 46 Schwangere mit initial erhöhtem %CDT-Messwert	41

10 Tabellenverzeichnis

	Seite
Tabelle 1: Statistische Kennzahlen des Alters für schwangere sowie nicht-schwangere Frauen	25
Tabelle 2: Messergebnisse der Alkoholkonsum-assoziierten Biomarker bei schwangeren und nicht-schwangeren Frauen	32
Tabelle 3: Errechnete Prävalenzen des schädlichen Alkoholkonsums bei schwangeren und nicht-schwangeren Frauen auf der Basis Alkoholkonsum-assoziiertes Biomarker	33
Tabelle 4: Aufschlüsselung der aufgetretenen Konstellationen mindestens eines erhöht gemessenen Biomarkers bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt	34
Tabelle 5: Errechnete Trimester-spezifische Prävalenzen des schädlichen Alkoholkonsums bei schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt	35
Tabelle 6: Mittelwerte (Standardabweichung) der Biomarker in den vier Gruppen	39
Tabelle 7: p-Werte für den Vergleich der Mittelwerte zwischen allen vier Gruppen	39

11 Danksagung

Ein großes Dankeschön gilt den ärztlichen Leitern des MVZ Medizinisches Labor Prof. Schenk/Dr. Ansorge und Kollegen, Herrn Dr. med. Thomas Ansorge und Frau Dr. med. Elina Taneva, dafür, dass Sie diese Arbeit durch Ihre Zusage der Durchführung dieser Studie in Ihrem Labor und somit der Bereitstellung der nötigen Infrastruktur möglich gemacht haben.

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wex, der mir während der ganzen Zeit der Planung und Durchführung der Experimente, des Verfassens der englischen Originalpublikation sowie des Schreibens dieser Dissertation jederzeit mit Rat zur Seite stand. Auf meine Fragen erhielt ich in kürzester Zeit Antworten und es gab jederzeit die Möglichkeit, Probleme und Fragen in einem persönlichen Gespräch zu diskutieren. Darüber hinaus durfte ich auch im privaten Bereich betreffend die eigene Karriere und den Umgang mit weiteren wissenschaftlichen Projekten viel von ihm lernen.

Ich danke den Medizinisch-technischen Assistent:innen der Abteilung Klinische Chemie II, die zusätzlich zur abzuarbeitenden Routinediagnostik die Messungen dieser Studie durchgeführt haben. Besonders danke ich hierbei Frau Neubauer und Frau Dengler sowie Frau Schmidt, Frau Michalek und Herrn Lehmann.

Ein weiterer Dank gilt meiner Ehefrau, die mir mit viel Verständnis gegenüber meiner abendlichen Arbeitszeit beim Schreiben der englischen Publikation und dieser Dissertation den Rücken freigehalten hat und mir jederzeit bei Fragen bezüglich der Rechtschreibung und Grammatik zur Seite stand.

Abschließend möchte ich der Hanns-Seidel-Stiftung danken, die in meiner Studienzeit, durch das an mich vergebene Stipendium einen sicheren finanziellen Rahmen und damit die Basis für einen reibungslosen Ablauf meines Studiums gelegt hat. Darüber hinaus verdanke ich es der Stiftung und den innerhalb der Stiftung geschlossenen Kontakte, dass sich mein Interesse an der Wissenschaft stets vergrößert hat, was letztendlich in dem Wunsch endete, eine wissenschaftliche Arbeit zur Erlangung der Doktorwürde zu beginnen.

12 Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Prävalenz des schädlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft
im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen in Sachsen-Anhalt auf der
Basis Alkoholkonsum-assoziierter Biomarker**

im Medizinischen Labor Prof. Schenk/Dr. Ansorge & Kollegen,

mit Unterstützung durch Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wex,

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 23.03.2021

Jakob Adler

13 Erklärung zur strafrechtlichen Verurteilung

Ich erkläre hiermit, nicht wegen einer Straftat verurteilt worden zu sein, die Wissenschaftsbezug hat.

Magdeburg, den 23.03.2021

Jakob Adler

14 Curriculum Vitae

Persönliche Daten:

Name, Vorname: Adler, Jakob
Geburtsdatum und -ort: 25.02.1991, Zittau
Anschrift: Friedensauer Weg 38
39114 Magdeburg
E-Mail: jakob_adler@gmx.de
Mobil: 0178 7177643

Schulische Ausbildung

2001 – 2009 Christian-Weise-Gymnasium Zittau
Abschluss: **Allgemeine Hochschulreife**

Grundwehrdienst:

01.10.2009 – 30.06.2010 Grundausbildung/Tätigkeit als Arztschreiber und
Assistent, Lehrgang zum Pflegehelfer

Studium:

01.01.2016 - 29.11.2016 Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
Staatsexamen Humanmedizin
01.10.2010 - 31.12.2015 Universität Leipzig
Studium der Humanmedizin (1. bis 10. Fachsemester)

Stipendien:

01.10.2013 - 29.11.2016 Stipendiat der Hanns-Seidel-Stiftung

Berufserfahrung/Praktika:

seit 01.01.2017 Weiterbildung zum Facharzt für Laboratoriumsmedizin
MVZ Medizinisches Labor Prof. Schenk/Dr. Ansorge &
Kollegen, Magdeburg

15 Originalpublikation

Ein Großteil der in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse wurden unter dem Titel:

Estimated prevalence of harmful alcohol consumption in pregnant and non-pregnant women in Saxony-Anhalt (North-East Germany) using biomarkers

im April 2021 in

Alcoholism: Clinical and Experimental Research

publiziert.

Informationen zum Journal:

Editor:	Henry R. Kanzler, M.D.
Impact factor:	3,035
2019 Journal Citation Reports:	8/20 (Substance Abuse)
Online ISSN:	1530-0277

Das Journal wird im Namen der Research Society on Alcoholism und der International Society for Biomedical Research on Alcoholism veröffentlicht.