



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ
ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ**



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗΣ & ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

Το αιθυλογλυκουρονίδιο και το αιθυλοσουλφίδιο ως
βιοδείκτες κατανάλωσης αιθανόλης
«Ethylglucuronide and ethylsulfide as biomarkers of ethanol consumption»

Ιστορίας Αλέξανδρος Γεώργιος

Επιβλέπουσα: Καθηγήτρια Μπούμπα Βασιλική

Περιεχόμενα

Περίληψη	3
Summary.....	4
Εισαγωγή.....	5
Μεθοδολογία Μελέτης.....	6
Μεταβολισμός αιθανόλης και σχηματισμός EtG/EtS.....	7
Μεταβολισμός και φαρμακοκινητική της αιθανόλης	7
Παράγοντες που επηρεάζουν το μεταβολισμό της αιθανόλης και τη συγκέντρωση στο αίμα	10
Εφαρμογές – Ανάγκες για βιοδείκτες γενικά	12
Διάγνωση και παρακολούθηση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ	12
Παρακολούθηση της αποχής και ανίχνευση υποτροπής.....	13
Ιατροδικαστικές και νομικές εφαρμογές	13
Εφαρμογές EtG και EtS στο αίμα	15
Βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ.....	16
Έμμεσοι Βιοδείκτες.....	17
Μεθανόλη.....	17
Ηπατικά ένζυμα	17
MCV (Mean Corpuscular Volume).....	18
CDT% (Carbohydrate-Deficient Transferrin).....	18
Άμεσοι Βιοδείκτες.....	19
PEth (Phosphatidyl-ethanol).....	19
FAEE (Fatty Acid Ethyl Esters)	19
Αιθυλικό γλυκουρονίδιο (EtG), Αιθυλικό σουλφίδιο (EtS).....	20
EtG & EtS	21
Ιστορική Αναδρομή	21
Φαρμακοκινητική	21
Απορρόφηση και σχηματισμός.....	22
Χρόνος εμφάνισης, μέγιστη συγκέντρωση και αποβολή	25
Βιολογικά υλικά και Σύγκριση Αίματος με τα Ούρα	25
Αναλυτική Μέθοδος	27
Ανοσοχημικές μέθοδοι	27
Χρωματογραφικές μέθοδοι	27
Συμπεράσματα	28
Πηγές	31

Περίληψη

Η ανάγκη για αντικειμενική εκτίμηση της κατανάλωσης αλκοόλ αποτελεί σημαντική πρόκληση στην κλινική, ιατρονομική και ιατροδικαστική καθημερινή πράξη. Η άμεση μέτρηση της αιθανόλης στο αίμα, στα ούρα και στον εκπνεόμενο αέρα αποτελεί τη συνηθέστερη μέθοδο για την τεκμηρίωση πρόσφατης κατανάλωσης, ωστόσο η διαγνωστική της αξία περιορίζεται από το μικρό χρονικό παράθυρο ανίχνευσης. Για το λόγο αυτό έχει αναπτυχθεί η χρήση βιοδεικτών που επιτρέπουν την αντικειμενική εκτίμηση της πρόσφατης ή χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ.

Σκοπός της παρούσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι η διερεύνηση των χαρακτηριστικών, της φαρμακοκινητικής και της διαγνωστικής αξίας των βιοδεικτών EtG και EtS με έμφαση στη χρήση του αίματος και στις κλινικές και ιατροδικαστικές εφαρμογές τους. Η αιθανόλη μεταβολίζεται κυρίως μέσω οξειδωτικών οδών στο ήπαρ, ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό υφίσταται μη οξειδωτικό μεταβολισμό. Ο μη οξειδωτικός μεταβολισμός οδηγεί στη παραγωγή μεταβολιτών συμπεριλαμβανομένων των EtG και EtS οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ λόγω του μεγαλύτερου παράθυρου εντοπισμού τους συγκριτικά με την αιθανόλη.

Η φαρμακοκινητική της αιθανόλης επηρεάζεται από παράγοντες όπως η παρουσία τροφής, η ταχύτητα γαστρικής κένωσης, το φύλο, η ηλικία, η σύσταση του σώματος, φάρμακα και γενετικοί πολυμορφισμοί των μεταβολικών ενζύμων προκαλώντας σημαντική διατομική μεταβλητότητα στις συγκεντρώσεις της στο αίμα. Οι βιοδείκτες συμβάλλουν στην αντικειμενική αξιολόγηση της κατανάλωσης αλκοόλ, στη διάγνωση και παρακολούθηση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ, στην τεκμηρίωση της αποχής και στην έγκαιρη ανίχνευση υποτροπής. Παράλληλα έχουν σημαντικές εφαρμογές στην ιατροδικαστική όπως στη διερεύνηση περιστατικών οδήγησης υπό την επήρεια αλκοόλ και στην παρακολούθηση της συμμόρφωσης με δικαστικές αποφάσεις.

Τα EtG και EtS εμφανίζουν μέγιστες συγκεντρώσεις λίγες ώρες μετά την κατανάλωση αλκοόλ και μπορούν να προσδιοριστούν σε διάφορα βιολογικά υλικά, με το αίμα να είναι κατάλληλο για την τεκμηρίωση πολύ πρόσφατης κατανάλωσης και τα ούρα να παρέχουν μεγαλύτερο χρονικό παράθυρο ανίχνευσης. Ο προσδιορισμός τους πραγματοποιείται με ανοσοχημικές και κυρίως με χρωματογραφικές τεχνικές LC-MS/MS οι οποίες αποτελούν τις μεθόδους αναφοράς λόγω της υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας τους.

Συμπερασματικά, οι βιοδείκτες EtG και EtS αποτελούν πολύτιμα εργαλεία για την τεκμηρίωση της πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ ιδιαίτερα όταν η αιθανόλη δεν είναι πλέον ανιχνεύσιμη. Η συνδυαστική χρήση διαφορετικών βιοδεικτών και βιολογικών υλικών προσφέρει την πληρέστερη αξιολόγηση του πρότυπου κατανάλωσης αλκοόλ σε κλινικά και ιατροδικαστικά πλαίσια.

Summary

The need for an objective assessment of alcohol consumption constitutes a significant challenge in everyday clinical, medicolegal and forensic practice. The direct detection of ethanol in blood, urine and breath is the most commonly used method for detecting recent alcohol consumption, however its diagnostic value is limited by its short detection window. For this reason, biomarkers have been developed that allow the objective assessment of recent or chronic alcohol consumption.

The aim of the present literature review is to investigate the characteristics, pharmacokinetics and diagnostic value of the biomarkers ethyl glucuronide (EtG) and ethyl sulfate (EtS) with particular emphasis in blood as biological matrices and their clinical and forensic applications. Ethanol is metabolized primarily through oxidative pathways in the liver, while only a small percentage undergoes non-oxidative metabolism. Non-oxidative metabolism leads to the production of metabolites, including EtG and EtS, which can be used as biomarkers of alcohol consumption due to their longer detection window in comparison with ethanol.

The pharmacokinetics of ethanol are influenced by factors such as food intake, the rate of gastric emptying, sex, age, body composition, drugs and genetic polymorphisms of metabolic enzymes, resulting in significant interindividual variability in blood ethanol concentrations. Biomarkers contribute to the objective assessment of alcohol consumption, the diagnosis and monitoring of alcohol use disorder, the documentation of abstinence and the early detection of relapse. In addition, they find important forensic applications, such as the investigation of driving under the influence of alcohol and the monitoring of compliance with court orders.

EtG and EtS reach peak concentrations a few hours after alcohol consumption and can be detected in various biological matrices, with blood being suitable for detecting very recent alcohol intake and urine providing a longer detection window. Their detection is performed using immunochemical methods and chromatographic techniques such as LC-MS/MS which are considered reference methods due to their high sensitivity and specificity.

In conclusion, the biomarkers EtG and EtS are valuable tools for documenting recent alcohol consumption, particularly when ethanol is no longer detectable. The combined use of different biomarkers and biological matrices provides the most comprehensive assessment of alcohol consumption patterns in both clinical and forensic settings.

Εισαγωγή

Η αιθανόλη αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη ψυχοδραστική ουσία παγκοσμίως. Αν και η κατανάλωση μικρών ποσοτήτων θεωρείται ασφαλής, η υπερβολική πρόσληψη συνδέεται με σημαντικές βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στην υγεία, καθώς και με σοβαρές κοινωνικές και οικονομικές συνέπειες.¹⁻³

Σε αντίθεση με πολλές άλλες ψυχοδραστικές ουσίες, η αιθανόλη απαιτεί σχετικά μεγάλες ποσότητες κατανάλωσης προκειμένου να εκδηλώσει τις φαρμακολογικές της δράσεις. Το γεγονός αυτό οφείλεται κυρίως στις ιδιαίτερες φαρμακοκινητικές της ιδιότητες. Μετά την απορρόφηση της, η αιθανόλη κατανέμεται σχεδόν ομοιόμορφα στο συνολικό ύδωρ του σώματος (total body water, TBW) το οποίο αντιστοιχεί περίπου στο 50-60% του σωματικού βάρους. Επιπλέον, δεν δεσμεύεται από τις πρωτεΐνες του πλάσματος ή άλλα βιομόρια και διέρχεται εύκολα των αιματοεγκεφαλικό φραγμό, επιδρώντας άμεσα στη λειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος.¹

Οι ιδιαίτερες αυτές φαρμακοκινητικές ιδιότητες καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη συγκέντρωση της αιθανόλης στο αίμα (blood alcohol concentration, BAC) που αποτελεί βασικό δείκτη της έκθεσης του οργανισμού και έχει συσχετισθεί με την ένταση των κλινικών εκδηλώσεων. Οι επιδράσεις της αιθανόλης είναι δόσοεξαρτώμενες. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο αίμα (BAC περίπου 0,3-0,5mg/ml), παρατηρούνται συνήθως ήπια ευφορία, αυξημένη κοινωνικότητα και μείωση των αναστολών. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (BAC 0,8-1,2 mg/ml) εμφανίζονται πιο έντονες διαταραχές, όπως επιβράδυνση του χρόνου αντίδρασης, μειωμένη ικανότητα επεξεργασίας πληροφοριών, διαταραχή του κινητικού συντονισμού και ασαφής ομιλία. Συγκεντρώσεις άνω των 2 mg/ml σχετίζονται με σοβαρή τοξίκωση και σημαντική λειτουργική ανικανότητα, ενώ σε επίπεδα που υπερβαίνουν τα 3 mg/ml μπορεί να υπάρξει κώμα και να απειληθεί η ζωή λόγω καταστολής των αναπνευστικών κέντρων στο στέλεχος του εγκεφάλου. Επιπρόσθετα, η εισρόφιση γαστρικού περιεχομένου μετά από έμετο αποτελεί έναν ακόμη σημαντικό μηχανισμό θανάτου σε οξεία δηλητηρίαση από αιθανόλη.¹

Οι επιδράσεις αυτές δεν περιορίζονται μόνο στις άμεσες τοξικές συνέπειες για το άτομο αλλά επεκτείνονται και σε σημαντικές κοινωνικές, υγειονομικές και νομικές προεκτάσεις. Η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ και η οξεία μέθη αποτελούν σημαντικά προβλήματα δημόσιας υγείας, συμβάλλοντας στη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα παγκοσμίως. Παράλληλα, έχουν ιδιαίτερη σημασία για την επιβολή του νόμου και την ιατροδικαστική πρακτική, καθώς πλήθος εγκληματικών πράξεων και ατυχημάτων διαπράττονται υπό την επήρεια αλκοόλ, όπως η οδήγηση σε κατάσταση μέθης, τα τροχαία ατυχήματα, η ενδοοικογενειακή βία και οι σεξουαλικές επιθέσεις.¹⁻³

Η πολυδιάστατη αυτή επίδραση του αλκοόλ καθιστά αναγκαία την αξιόπιστη εκτίμηση της κατανάλωσης αλκοόλ τόσο για κλινικούς όσο και για ιατροδικαστικούς και νομικούς σκοπούς, είτε για τη διερεύνηση πρόσφατης κατανάλωσης είτε για τη τεκμηρίωση

προηγούμενης χρήσης ή αποχής από το αλκοόλ. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται ερωτηματολόγια αυτοαναφοράς και εργαστηριακοί βιοδείκτες. Ωστόσο τα ερωτηματολόγια επηρεάζονται συχνά από σφάλματα μνήμης ή σκόπιμη υποαναφορά της κατανάλωσης. Αντίθετα οι βιοδείκτες παρέχουν αντικειμενικές πληροφορίες, ανεξάρτητες από την υποκειμενική κρίση του εξεταζόμενου.⁴⁻⁶

Παρά το γεγονός ότι η άμεση μέτρηση της αιθανόλης στην αναπνοή, το αίμα και τα ούρα αποτελεί την πλέον χρησιμοποιούμενη προσέγγιση για τη διερεύνηση πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ, η χρησιμότητα της περιορίζεται από το σχετικά στενό χρονικό παράθυρο ανίχνευσης καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις η αιθανόλη δεν είναι πλέον μετρήσιμη 6-8 ώρες μετά τη κατανάλωση, περιορίζοντας σημαντικά τη διαγνωστική της αξία σε περιπτώσεις καθυστερημένης δειγματοληψίας. Επιπλέον η ερμηνεία της παρατηρούμενη συγκέντρωσης αιθανόλης στο αίμα δεν είναι πάντα απλή καθώς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η ποσότητα και ο ρυθμός κατανάλωσης, το φύλο, η σύσταση του σώματος και ο χρόνος που έχει παρέλθει από τη λήψη του αλκοόλ.^{7,8}

Οι περιορισμοί αυτοί δημιουργούν την ανάγκη για αξιόπιστους βιοδείκτες που παρατείνουν το χρονικό παράθυρο ανίχνευσης της πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ και προσφέρουν πιο αξιόπιστες εκτιμήσεις για το πρότυπο κατανάλωσης και το χρόνο λήψης αλκοόλ έχει οδηγήσει στην αυξανόμενη χρήση των άμεσων μεταβολιτών της αιθανόλης στην κλινική και ιατροδικαστική πράξη.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανασκόπηση των χαρακτηριστικών, της φαρμακοκινητικής και της διαγνωστικής αξίας των βιοδεικτών EtG και EtS, με ιδιαίτερη έμφαση στο αίμα και τις κλινικές και ιατροδικαστικές εφαρμογές τους.

Μεθοδολογία Μελέτης

Η παρούσα εργασία αποτελεί βιβλιογραφική ανασκόπηση της διεθνούς επιστημονικής βιβλιογραφίας σχετικά με τους άμεσους βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ, αιθυλογλυκουρονίδιο (EtG) και αιθυλοσουλφίδιο (EtS).

Η αναζήτηση της βιβλιογραφίας πραγματοποιήθηκε στη βάση δεδομένων PubMed με την αξιοποίηση των λογικών τελεστών AND και OR. Εφαρμόστηκαν οι ακόλουθοι αλγόριθμοι αναζήτησης:

- ("ethyl glucuronide" OR "ethyl sulfate") AND ("ethanol" OR "alcohol")
- ("ethyl glucuronide" OR "ethyl sulfate")
- ethyl glucuronide OR ethyl sulfate

Τα αποτελέσματα περιορίστηκαν σε δημοσιεύσεις από το έτος 2000 και έπειτα χρησιμοποιώντας τα διαθέσιμα φίλτρα της βάσης δεδομένων. Στη συνέχεια οι

βιβλιογραφικές αναφορές εισήχθησαν στη πλατφόρμα Rayyan για τη διενέργεια συστηματικότερης αξιολόγησης και επιλογής των μελετών.

Κατά τη διαδικασία επιλογής αποκλείστηκαν μελέτες που αφορούσαν πειραματόζωα, καθώς και εργασίες που αναφέρονταν αποκλειστικά σε μεταθανάτιες εφαρμογές και νεκροτομικά δείγματα. Αποκλείστηκαν επίσης μελέτες που δεν ήταν στα αγγλικά. Ο αποκλεισμός πραγματοποιήθηκε αρχικά βάση του τίτλου και της περίληψης των άρθρων και, όπου κρίθηκε απαραίτητο, μετά από αξιολόγηση του πλήρους κειμένου. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε σε μελέτες που διερευνούν τη χρήση του αίματος ως βιολογικό υλικό για τον προσδιορισμό των υπό μελέτη βιοδεικτών.

Επιπλέον εξετάστηκαν οι βιβλιογραφικές αναφορές των επιλεγμένων άρθρων με σκοπό των εντοπισμό πρόσθετων σχετικών δημοσιεύσεων. Η αξιολόγηση της βιβλιογραφίας επικεντρώθηκε στα χαρακτηριστικά των βιοδεικτών EtG και EtS, στα χρονικά παράθυρα ανίχνευσης, στις αναλυτικές μεθόδους προσδιορισμού τους και στη χρησιμότητα τους κατά τον έλεγχο πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ με έμφαση στη χρήση του αίματος ως βιολογικού υλικού.

Μεταβολισμός αιθανόλης και σχηματισμός EtG/EtS

Μεταβολισμός και φαρμακοκινητική της αιθανόλης

Η αιθανόλη είναι μικρό και μη φορτισμένο μόριο με αποτέλεσμα να διαπερνά εύκολα τις βιολογικές μεμβράνες μέσω παθητικής διάχυσης. Έτσι μετά τη κατανάλωση απορροφάται από τους βλεννογόνους της στοματικής κοιλότητας, του στομάχου, του δωδεκαδάκτυλου και της νήστιδας. Ο ρυθμός απορρόφησης είναι ιδιαίτερα υψηλός στο δωδεκαδάκτυλο και στη νήστιδα λόγω της μεγάλης επιφάνειας απορρόφησης που δημιουργείται από τις λάχνες και τις μικρολάχνες (δακτυλοειδείς προεκβολές) του εντερικού βλεννογόνου.^{1,9}

Αφού απορροφηθεί στη φλεβική κυκλοφορία του γαστρεντερικού μεταφέρεται μέσω της πυλαίας φλέβας στο ήπαρ. Στη συνέχεια μέσω των ηπατικών φλεβών, φτάνει στη καρδιά και από εκεί μέσω των πνευμονικών αρτηριών οδηγείται στους πνεύμονες, επιστρέφει στη καρδιά μέσω των πνευμονικών φλεβών και τελικά εισέρχεται στη συστηματική κυκλοφορία. Κατανέμεται έτσι ταχέως σε όλους τους ιστούς και τα σωματικά υγρά ανάλογα με τη περιεκτικότητά τους σε νερό (είναι υδατοδιαλυτή). Δεν δεσμεύεται σε πρωτεΐνες του πλάσματος ή άλλα βιομόρια και η κατανομή της περιορίζεται ουσιαστικά στο ολικό σωματικό ύδωρ (total body water, TBW).^{1,9}

Περίπου το 95% της προσλαμβανόμενης αιθανόλης μεταβολίζεται και μόνο ένα μικρό ποσοστό της αποβάλλεται αμετάβλητο στην αναπνοή, τα ούρα και τον ιδρώτα. Η κύρια οδός του μεταβολισμού είναι η οξειδωση της στο ήπαρ, μέσω αυτής της οδού αποδομείται περισσότερο από το 90% της καταναλωθείσας αιθανόλης.⁹

Το πρώτο στάδιο του οξειδωτικού μεταβολισμού είναι η μετατροπή της αιθανόλης σε ακεταλδεΰδη. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται μέσω τριών ενζυμικά καταλυόμενων οδών που λαμβάνουν χώρα σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα των ηπατοκυττάρων. Η κύρια οδός λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα και καταλύεται από τα ένζυμα της οικογένειας των αλκοολικών δεϋδρογονασών (ADHs). Σε μικρότερο βαθμό η οξείδωση της αιθανόλης πραγματοποιείται από το μικροσωμικό σύστημα οξείδωσης της αιθανόλης (microsomal ethanol oxidizing system, MEOS) στο οποίο κυρίαρχο ρόλο έχουν ισομορφές του κυτοχρώματος P450 (ειδικά του CYP2E1), καθώς και από την καταλάση στα υπεροξειδισώματα.⁸⁻¹⁰

Σε δεύτερο βήμα η παραγόμενη ακεταλδεΰδη οξειδώνεται σε οξικό ανιόν (acetate) με τη δράση του ενζύμου ακεταλδεϋδικής δεϋδρογονάσης (ALDH) και με μικρότερη συμβολή της ξανθινικής οξειδάσης (XO) και της αλδεϋδικής οξειδάσης (AO). Τέλος το οξικό ανιόν απελευθερώνεται στη συστηματική κυκλοφορία και σε εξωηπατικούς ιστούς όπως οι μύες, η καρδιά και ο εγκέφαλος μετατρέπεται σε ακετυλο-συνένζυμο Α (acetyl-CoA) που συμμετέχει στο κύκλο του Krebs.⁸⁻¹⁰

Ένα μικρό τμήμα της αλκοόλης μεταβολίζεται ήδη στο γαστρικό βλεννογόνο πριν εισέλθει στη συστηματική κυκλοφορία και φτάσει στο ήπαρ, διαδικασία που περιγράφεται ως γαστρικός μεταβολισμός πρώτης διόδου (gastric first-pass metabolism). Στον μεταβολισμό αυτό συμμετέχουν διάφορες ισομορφές της αλκοολικής δεϋδρογονάσης που εκφράζονται στο στομάχι. Αν και έχει προταθεί ότι ο γαστρικός μεταβολισμός μπορεί να μετριάσει την απορρόφηση της αιθανόλης και τελικά τη βιοδιαθεσιμότητα της, το ποσοστό της συμβολής του παραμένει αμφιλεγόμενο και φαίνεται να παρουσιάζει σημαντική διατομική μεταβλητότητα.⁸

Εκτός από τον οξειδωτικό μεταβολισμό, ένα πολύ μικρό ποσοστό της αιθανόλης (<0.2%) υφίσταται μη οξειδωτικό μεταβολισμό. Κατά τη διαδικασία αυτή η αιθανόλη συζευγνύεται ενζυμικά με ενδογενή μόρια όπως το γλυκουρονικό οξύ, σουλφίδια, φωσφολιπίδια και λιπαρά οξέα. Οι τελικοί μεταβολίτες ονομάζονται αντίστοιχα αιθυλικό γλυκουρονίδιο (ethyl glucuronide EtG), αιθυλικό σουλφίδιο (ethyl sulfate EtS), φωσφατιδιλοαιθανόλη (phosphatidylethanol PEth) και αιθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων (FAEE).¹

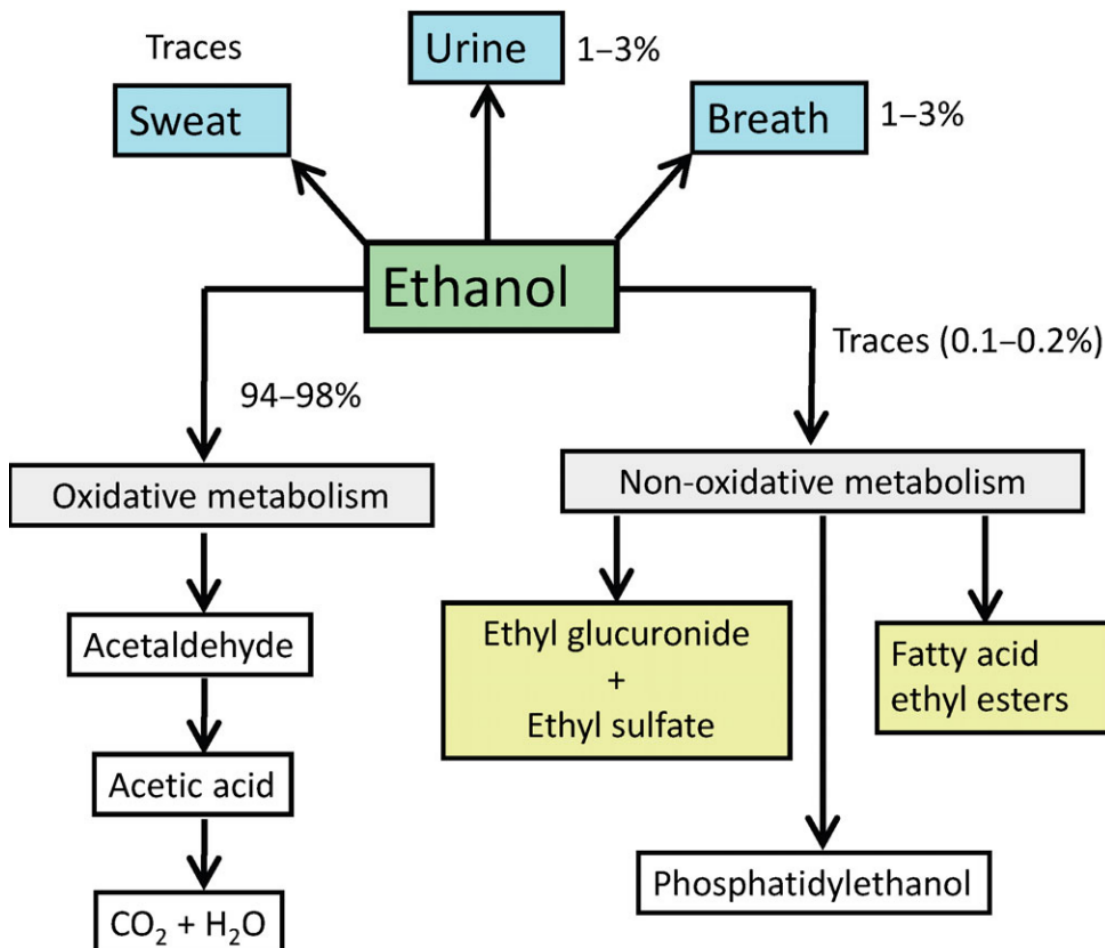
Παρότι οι μη οξειδωτικοί μεταβολίτες αντιπροσωπεύουν μόνο ένα ελάχιστο ποσοστό του συνολικού μεταβολισμού της αιθανόλης παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερους χρόνους παραμονής στους ιστούς και στα βιολογικά υγρά σε σύγκριση με την ίδια την αιθανόλη. Για το λόγο αυτό αποτελούν ιδιαίτερα χρήσιμους βιοδείκτες στη κλινική και ιατροδικαστική πράξη.^{1,9,10}

Το αιθυλικό γλυκουρονίδιο (EtG) σχηματίζεται μέσω μεταφοράς μιας γλυκουρονυλικής ομάδας από το ουριδίνη-5-διφωσφο-γλυκουρονικό οξύ (UDP-glucuronic acid) στην αιθανόλη, η αντίδραση καταλύεται από ένζυμα της οικογένειας των UDP-

γλυκουρονοσουλφotρανσφερασών (UGTs). Διάφορες ισομορφές των UGTs εκφράζονται σε πολλούς ιστούς, με μεγαλύτερη έκφραση στο ήπαρ, το γαστρεντερικό σύστημα και τους νεφρούς, στα όργανα αυτά έχει παρατηρηθεί και ο σημαντικότερος σχηματισμός του EtG. Το EtG αποβάλλεται κυρίως μέσω των ούρων και αντιπροσωπεύει λιγότερο από 0.1% της προσλαμβανόμενης αιθανόλης.⁹⁻¹¹

Το αιθυλικό σουλφίδιο EtS σχηματίζεται με τη προσθήκη μιας σουλφιδικής ομάδας στην αιθανόλη, η αντίδραση καταλύεται από μια κατηγορία ενζύμων που ονομάζονται σουλφotρανσφεράσες (SULTs). Παρουσιάζει παρόμοια φαρμακοκινητική με το EtG και αποβάλλεται επίσης με τα ούρα.⁹

Η φωσφατιδυλοαιθανόλη PEth σχηματίζεται από την αντίδραση της αιθανόλης με τη φωσφατιδυλοχολίνη των κυτταρικών μεμβρανών, με τη συμμετοχή του ενζύμου φωσφολιπάση D. Τέλος οι αιθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων σχηματίζονται από την ενζυμική εστεροποίηση της αιθανόλης με λιπαρά οξέα.¹⁰



Εικόνα 1 Συνολική εικόνα μεταβολισμού αιθανόλης⁷

Παράγοντες που επηρεάζουν το μεταβολισμό της αιθανόλης και τη συγκέντρωση στο αίμα

Η φαρμακοκινητική της αιθανόλης παρουσιάζει σημαντική διατομική μεταβλητότητα, καθώς επηρεάζεται από παράγοντες που σχετίζονται με την απορρόφηση, την κατανομή και το μεταβολισμό της.

Η απορρόφηση της αιθανόλης πραγματοποιείται βραδύτερα στο στομάχι σε σύγκριση με το δωδεκαδάκτυλο και την νήστιδα. Επομένως, η ταχύτητα γαστρικής κένωσης αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν τη κινητική της αιθανόλης. Η παρουσία τροφής στο στομάχι καθυστερεί τη γαστρική κένωση μέσω μείωσης της γαστρικής κινητικότητας ειδικά στη περιοχή του άντρου, και μέσω παρατεταμένης σύσπασης του πυλωρικού σφιγκτήρα με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της απορρόφησης της αιθανόλης. Σε συνθήκες νηστείας η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης στο αίμα επιτυγχάνεται συνήθως μέσα σε περίπου 45 λεπτά, ενώ μετά από κατανάλωση τροφής μπορεί να καθυστερήσει έως και 90 λεπτά και να είναι σημαντικά χαμηλότερη. Η κινητική της αιθανόλης σε κατανάλωση τροφής έναντι της νηστείας απεικονίζεται στην εικόνα 2.^{8,12}

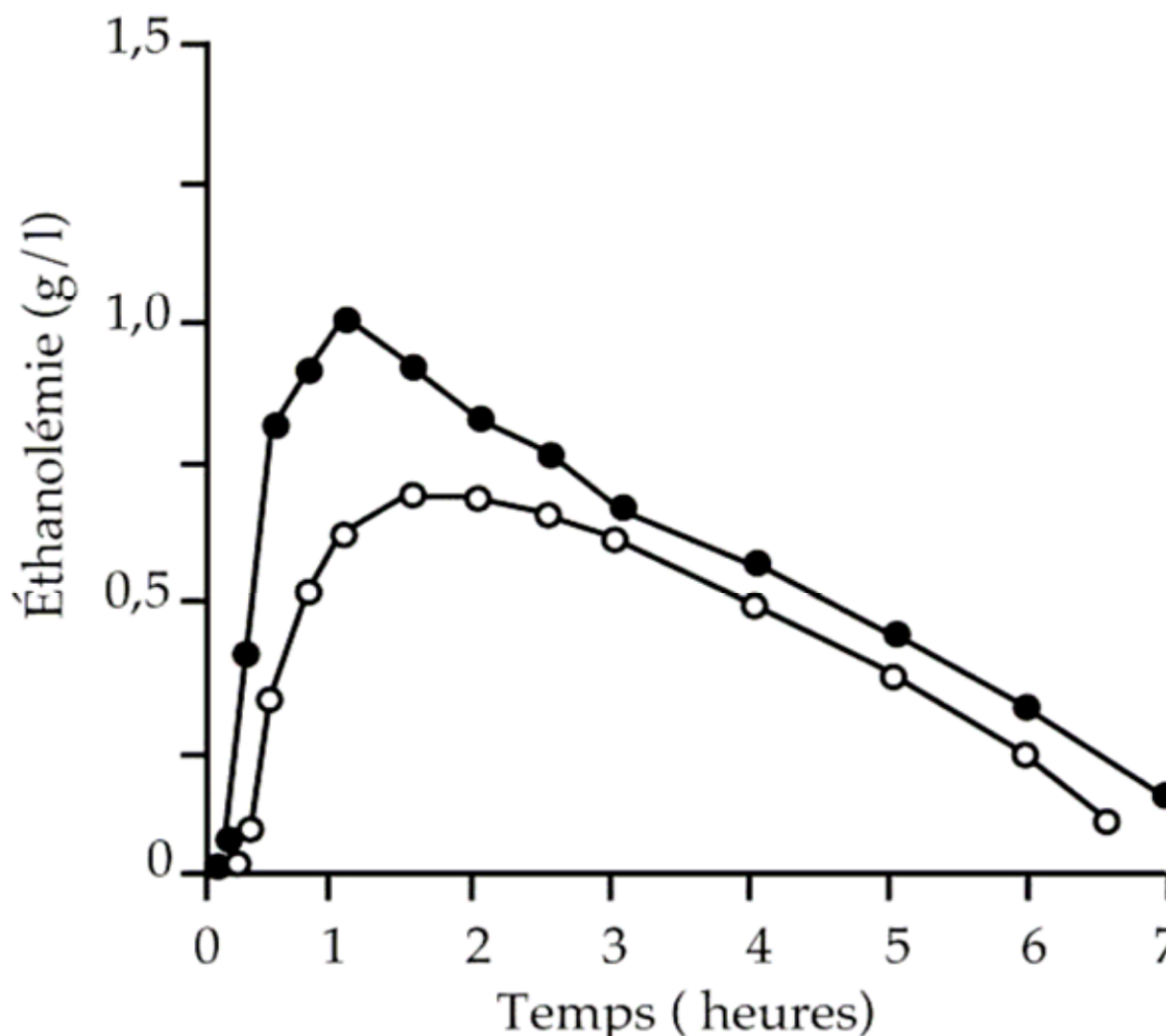
Η γαστρική κένωση μπορεί επίσης να επηρεαστεί από φαρμακευτικές ουσίες. Αντιεμετικά και προκινητικά φάρμακα κατά της ναυτίας επιταχύνουν την κένωση ενώ αντιχολινεργικά φάρμακα την επιβραδύνουν, μεταβάλλοντας αντίστοιχα τον ρυθμό απορρόφησης της αιθανόλης.⁸

Ένας επιπλέον παράγοντας που επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα της αιθανόλης είναι ο γαστρικός μεταβολισμός πρώτης διόδου. Άτομα με μειωμένη ενεργότητα της γαστρικής αλκοολικής δεϋδρογονάσης, όπως οι χρόνιοι χρήστες αλκοόλ, μεταβολίζουν μικρότερη ποσότητα αιθανόλης πριν αυτή εισέλθει στη συστηματική κυκλοφορία και επομένως εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης στο αίμα. Παρόμοια αύξηση των συγκεντρώσεων μπορεί να παρατηρηθεί μετά από χορήγηση φαρμάκων που αναστέλλουν τη δράση της γαστρικής αλκοολικής δεϋδρογονάσης, όπως η ασπιρίνη και οι ανταγωνιστές των H₂ υποδοχέων της ισταμίνης (ρανιτιδίνη, σιμετιδίνη).⁸

Η κατανομή της αιθανόλης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το ολικό σωματικό ύδωρ TBW καθώς η διαλυτότητα της στο λιπώδη και τον οστικό ιστό είναι αμελητέα. Ως αποτέλεσμα άτομα με μικρότερο ποσοστό σωματικού ύδατος εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης στο αίμα μετά την κατανάλωση της ίδια ποσότητας αλκοόλ. Οι γυναίκες διαθέτουν κατά μέσο όρο μεγαλύτερο ποσοστό λιπώδους ιστού και μικρότερο ποσοστό ολικού σωματικού ύδατος σε σύγκριση με τους άνδρες, γεγονός που οδηγεί σε μικρότερο όγκο κατανομής της αιθανόλης και υψηλότερες συγκεντρώσεις στο αίμα μετά από ισοδύναμη κατανάλωση αλκοόλ. Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις ότι ο γαστρικός μεταβολισμός πρώτης διόδου είναι λιγότερο ενεργός στις γυναίκες που ενισχύει περαιτέρω αυτή τη διαφορά.^{1,12}

Η ηλικία επηρεάζει επίσης τη φαρμακοκινητική της αιθανόλης. Με την πάροδο του χρόνου παρατηρείται μείωση της μυϊκής μάζας και του ολικού σωματικού ύδατος, καθώς και αύξηση του ποσοστού λιπώδους ιστού. Ως αποτέλεσμα οι ηλικιωμένοι τείνουν να εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης στο αίμα συγκριτικά με νεότερα άτομα μετά από κατανάλωση της ίδιας ποσότητας αλκοόλ.¹²

Τέλος σημαντική επίδραση στο μεταβολισμό της αιθανόλης ασκούν οι γενετικοί πολυμορφισμοί των ενζύμων που συμμετέχουν στον μεταβολισμό της, κυρίως της αλκοολικής δεϋδρογονάσης 1B (ADH1B) και της αλδεϋδικής δεϋδρογονάσης 2 (ALDH2). Οι γενετικές αυτές παραλλαγές παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ εθνικοτήτων και ευθύνονται για μέρος της διατομικής μεταβλητότητας στο ρυθμό μεταβολισμού της αιθανόλης και στην ευαισθησία στις επιδράσεις της.¹³



Εικόνα 1 Τιμές αιθανόλης στο αίμα σε άνδρα που κατανάλωσε ίδια ποσότητα αλκοόλ σε νηστεία και με κατανάλωση φαγητού¹²

Εφαρμογές – Ανάγκες για βιοδείκτες γενικά

Λόγω των σημαντικών επιπτώσεων της υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ στη σωματική υγεία, την ψυχική ευημερία και τη δημόσια ασφάλεια, η έγκαιρη αναγνώριση των ατόμων με επιβλαβή χρήση αλκοόλ αποτελεί σημαντικό στόχο της σύγχρονης κλινικής πρακτικής. Για το λόγο αυτό, συνίσταται ο συστηματικός προσυμπτωματικός έλεγχος όλων των ενηλίκων στο επίπεδο της πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας. Ο έλεγχος βασίζεται κυρίως σε ερωτηματολόγια αυτοαναφοράς όπως το CAGE (τεσσάρων ερωτήσεων), το MAST (Michigan Alcoholism Screening Test - 22 ερωτήσεων) και το AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test - 10 ερωτήσεων) καθώς και σε πληροφορίες που παρέχονται από μέλη της οικογένειας ή του στενού κοινωνικού περιβάλλοντος του ατόμου.^{10,14}

Ωστόσο σημαντικός αριθμός μελετών έχουν αναδείξει τους περιορισμούς των ερωτηματολογίων καθώς τα άτομα με προβληματική κατανάλωση αλκοόλ συχνά αποκρύπτουν σκόπιμα πληροφορίες ή αδυνατούν να ανακαλέσουν με ακρίβεια τις συνήθειες κατανάλωσης τους. Ως αποτέλεσμα έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για τη χρήση βιοδεικτών οι οποίοι επιτρέπουν μια περισσότερο αντικειμενική αξιολόγηση της έκθεσης στην αιθανόλη.^{10,15}

Παρότι οι βιοδείκτες δεν συνιστώνται ως αυτόνομα εργαλεία ανίχνευσης της χρήσης αλκοόλ στο γενικό πληθυσμό, αποτελούν πολύτιμα συμπληρωματικά εργαλεία σε περιπτώσεις όπου το άτομο αδυνατεί να παρέχει αξιόπιστες πληροφορίες, κατά την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας θεραπευτικών παρεμβάσεων μέσω διαδοχικών ελέγχων, καθώς και για τη τεκμηρίωση της αποχής σε άτομα που υποχρεούνται για ιατρικούς ή νομικούς λόγους να μην καταναλώνουν αλκοόλ.¹⁰

Διάγνωση και παρακολούθηση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ

Μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές των βιοδεικτών είναι η υποστήριξη του προσυμπτωματικού ελέγχου και της διάγνωσης της διαταραχής χρήσης αλκοόλ. Σύμφωνα με το DSM-5 η διαταραχή χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως η έντονη επιθυμία για κατανάλωση αλκοόλ, η ανάπτυξη ανοχής, οι ανεπιτυχείς προσπάθειες διακοπής της χρήσης και η σημαντική έκπτωση της κοινωνικής και επαγγελματικής λειτουργικότητας.

Η έγκαιρη αναγνώριση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ επιτρέπει την εφαρμογή κατάλληλων ιατρικών και ψυχοκοινωνικών παρεμβάσεων μειώνοντας το κίνδυνο ανάπτυξης οργανικής νόσου και περαιτέρω ιατρικών, κοινωνικών και ψυχολογικών επιπλοκών. Ενδεικτικά σε ασθενείς με αλκοολική κίρρωση του ήπατος, η διακοπή της κατανάλωσης αλκοόλ συνοδεύεται από σημαντική βελτίωση της πρόγνωσης, με αύξηση της ετήσιας επιβίωσης από 63% σε 95% και της πενταετούς επιβίωσης από 36% σε 61% αντίστοιχα.^{16,17}

Παρακολούθηση της αποχής και ανίχνευση υποτροπής

Οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται επίσης για την παρακολούθηση της αποχής σε άτομα με διαγνωσμένη προβληματική κατανάλωση αλκοόλ και για την έγκαιρη αναγνώριση πιθανής υποτροπής, επιτρέποντας την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών παρεμβάσεων.¹⁶

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η εφαρμογή τους στα προγράμματα μεταμόσχευσης ήπατος. Σε ορισμένες χώρες, όπως η Γερμανία χρησιμοποιούνται βιοδείκτες όπως το EtG τόσο πριν την ένταξη των ασθενών στη λίστα αναμονής όσο και κατά τη περίοδο εύρεσης μοσχεύματος. Η ανίχνευση αλκοόλ οδηγεί σε εξειδικευμένες υπηρεσίες αντιμετώπισης εξαρτήσεων, ενώ αντίστοιχοι έλεγχοι πραγματοποιούνται και μετά τη μεταμόσχευση για την έγκαιρη ανίχνευση πιθανής υποτροπής.^{10,16}

Κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι ορισμένες πηγές έκθεσης σε αιθανόλη μπορεί να μην αναγνωρίζονται από το ίδιο το εξεταζόμενο άτομο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η κατανάλωση μπύρας χωρίς αλκοόλ, η οποία συχνά θεωρείται εσφαλμένα ότι δεν περιέχει καθόλου αιθανόλη. Ωστόσο ανάλογα με τη νομοθεσία κάθε χώρας, τα προϊόντα αυτά μπορεί να περιέχουν μικρές ποσότητες αλκοόλ χωρίς να απαιτείται να αναγράφεται, για παράδειγμα έως 0.5% vol στη Γερμανία, οι οποίες υπό ορισμένες συνθήκες ενδέχεται να οδηγήσουν σε χαμηλές αλλά μετρήσιμες συγκεντρώσεις EtG και EtS.¹⁸

Ιατροδικαστικές και νομικές εφαρμογές

Πέρα από την κλινική πρακτική, οι βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ έχουν αποκτήσει ιδιαίτερη σημασία σε ιατροδικαστικά και νομικά πλαίσια. Ενδεικτικές εφαρμογές περιλαμβάνουν:

- 1) την εκτίμηση οδήγησης υπό την επήρεια αλκοόλ,
- 2) την αξιολόγηση της καταλληλότητας για επαναχορήγηση άδειας οδήγησης μετά από καταδίκη και κατάσχεση για οδήγηση υπό την επήρεια αλκοόλ,
- 3) την παρακολούθηση αποχής κατόπιν δικαστικής εντολής,
- 4) υποθέσεις επιμέλειας τέκνων και οικογενειακού δικαίου,
- 5) τον έλεγχο εργαζομένων σε επαγγέλματα αυξημένης ευθύνης και ασφάλειας όπως πιλότοι, οδηγοί, επαγγελματίες υγείας ή στελέχη σωμάτων ασφαλείας,
- 6) ασφαλιστικές και ιατροδικαστικές εκτιμήσεις σε υποθέσεις αποζημιώσεων ή αναπηρίας,
- 7) τη μεταθανάτια διερεύνηση των αιτιών και των συνθηκών θανάτου.
- 8) Τη διερεύνηση και καταγραφή περιστατικών βίας.^{16,19}

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται ενδεικτικά μελέτες στις οποίες οι βιοδείκτες EtG και EtS χρησιμοποιήθηκαν σε διαφορετικά βιολογικά υλικά και για ποικίλους κλινικούς και ιατροδικαστικούς σκοπούς.

Πίνακας 1 Ενδεικτικές μελέτες χρήσης των βιοδεικτών EtG και EtS σε διάφορα βιολογικά υλικά

Μελέτη	Υλικό	Σκοπός
Investigating Secondary Alcohol Outcomes in a Contingency Management Intervention among American Indian and Alaska Native Adults ²⁰	Ούρα	Εκτίμηση επιτυχίας συμπεριφορικής θεραπείας για προβληματική χρήση αλκοόλ.
Pretreatment ethyl glucuronide levels predict response to a contingency management intervention for alcohol use disorders among adults with serious mental illness. ²¹	Ούρα	Χρήση επιπέδων EtG πριν τη συμπεριφορική θεραπεία ως προγνωστικός δείκτης επιτυχίας της για την αντιμετώπιση προβληματικής χρήσης αλκοόλ σε άτομα με ψυχιατρική νόσο.
Filling the gap between lab and clinical impact: An open randomized diagnostic trial comparing urinary ethylglucuronide and ethanol in alcohol dependent outpatients ²²	Ούρα	Εκτίμηση της μέτρησης EtG ως παρέμβασης για μείωση κατανάλωσης αλκοόλ συγκριτικά με μέτρηση αιθανόλης μετά από ενημέρωση των υπό εξέταση ατόμων για τη διαφορά στο παράθυρο εντοπισμού.
Urinary Ethyl Glucuronide for the Assessment of Alcohol Consumption During Pregnancy: Comparison between Biochemical Data and Screening Questionnaires.	Ούρα	Εκτίμηση κατανάλωσης αλκοόλ στην εγκυμοσύνη και σύγκριση με ερωτηματολόγια αυτοαναφοράς.
Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium and hair-potential biomarkers of intrauterine exposure to ethanol. ²³	Μηκόνιο Τρίχες	Εκτίμηση κατανάλωσης αλκοόλ στην εγκυμοσύνη.
Investigating alcohol consumption in China via wastewater-based epidemiology ²⁴	Sewage samples	Εκτίμηση κατανάλωσης αλκοόλ ενός πληθυσμού με βάση την εύρεση των μεταβολιτών στα απόβλητα της πόλης.
Measurement of direct ethanol metabolites in a case of a former driving under the influence (DUI) of alcohol offender, now claiming abstinence. ²⁵	Τρίχες	Εκτίμηση αποχής από αλκοόλ σε νομική υπόθεση για οδήγηση υπό την επήρεια.
Evaluation of harmful drinking among professional drivers by direct ethanol biomarkers and its relation with psychological distress. ²⁶	Ξηρές κηλίδες αίματος	Εκτίμηση κατανάλωσης αλκοόλ σε οδηγούς, σύγκριση με ερωτηματολόγια και συσχέτιση με ψυχολογική δυσφορία (κατάθλιψη, άγχος).

Εφαρμογές EtG και EtS στο αίμα

Η μέτρηση των EtG και EtS στο αίμα χρησιμοποιείται κυρίως για την τεκμηρίωση πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου η αιθανόλη δεν είναι πλέον ανιχνεύσιμη. Η εφαρμογή αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία σε περιστατικά διερεύνησης οδήγησης υπό την επήρεια αλκοόλ. Σε ορισμένες χώρες, όπως η Ιαπωνία η πιο χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η μέτρηση της αιθανόλης στην αναπνοή. Όταν η εξέταση μέσω αναπνοής δεν είναι εφικτή ή δεν πραγματοποιείται άμεσα, μπορεί να απαιτηθεί λήψη δείγματος αίματος κατόπιν εισαγγελικής παρέμβασης. Ωστόσο επειδή συχνά μεσολαβούν αρκετές ώρες μέχρι τη λήψη του δείγματος, η αιθανόλη ενδέχεται να έχει ήδη απομακρυνθεί από τον οργανισμό δεδομένου ότι συνήθως δεν ανιχνεύεται μετά από 6-8 ώρες από την κατανάλωση αλκοόλ.¹³

Μια ιδιαίτερα σημαντική ιατροδικαστική εφαρμογή των EtG και EtS αφορά τη διερεύνηση του ισχυρισμού μεταγενέστερης κατανάλωσης αλκοόλ μετά τη πρόκληση τροχαίου ατυχήματος («hip flask defense»). Στις περιπτώσεις αυτές ο υπαίτιος υποστηρίζει ότι κατανάλωσε αλκοόλ μόνο μετά το συμβάν και όχι πριν από αυτό. Για τη διερεύνηση τέτοιων ισχυρισμών έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες προσεγγίσεις όπως:²⁷

- η μέτρηση της συγκέντρωσης αιθανόλης σε δύο διαδοχικά δείγματα αίματος,
- η αξιολόγηση του λόγου συγκέντρωσης αιθανόλης μεταξύ αίματος και ούρων σε διαδοχικά δείγματα.
- η μέτρηση των μη οξειδωτικών μεταβολιτών της αιθανόλης EtG και EtS στο αίμα

Βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ

Οι βιοδείκτες κατανάλωσης αιθανόλης χρησιμοποιούνται για την αντικειμενική τεκμηρίωση της έκθεσης στην αιθανόλη, ιδιαίτερα όταν η άμεση μέτρηση της δεν είναι πλέον εφικτή. Ανάλογα με τη βιολογική τους προέλευση διακρίνονται σε άμεσους και έμμεσους βιοδείκτες. Οι άμεσοι βιοδείκτες αποτελούν προϊόντα του μεταβολισμού της αιθανόλης ή σχηματίζονται αποκλειστικά παρουσία αυτής και ως εκ τούτου, εμφανίζουν υψηλή ειδικότητα ως προς την κατανάλωση αλκοόλ. Αντίθετα οι έμμεσοι βιοδείκτες δεν σχετίζονται άμεσα με το μεταβολισμό της αιθανόλης αλλά αντανakλούν τις βιοχημικές, μεταβολικές και κυτταρικές μεταβολές που προκαλεί η χρόνια ή επαναλαμβανόμενη έκθεση στο αλκοόλ, συνήθως ως αποτέλεσμα της τοξικής δράσης της αιθανόλης στον οργανισμό.^{7,9,10,16}

Η απλούστερη και παλαιότερη μέθοδος εκτίμησης κατανάλωσης αλκοόλ είναι ο προσδιορισμός της αιθανόλης στο αίμα, στον εκπνεόμενο αέρα ή στα ούρα. Ο χρόνος επίτευξης της μέγιστης συγκέντρωσης αιθανόλης στο αίμα (peak BAC) παρουσιάζει σημαντική διακύμανση καθώς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες που τροποποιούν τον ρυθμό απορρόφησης της αιθανόλης. Παράγοντες όπως η ταχύτητα κατανάλωσης του ποτού, η γαστρική κένωση, η παρουσία τροφής στο στομάχι, η συγχορήγηση φαρμάκων και προηγούμενες χειρουργικές επεμβάσεις στο γαστρεντερικό σύστημα μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά το ρυθμό απορρόφησης της αιθανόλης. Η μέγιστη συγκέντρωση στο αίμα μπορεί να επιτευχθεί σε χρονικό διάστημα από 5-10 λεπτά έως και 120 λεπτά μετά την κατανάλωση. Ο ρυθμός μεταβολισμού της αιθανόλης στο ήπαρ είναι περίπου 6-8g/h που αντιστοιχεί σε μείωση στη συγκέντρωση της αιθανόλης κατά 0.15g/L/h (εύρος 0.1-0.3g/L/h). Έτσι σε ένα παράδειγμα βαριάς κατανάλωσης όπου η μέγιστη BAC είναι 1.5g/L χρειάζονται περίπου 10 ώρες για να απομακρυνθεί από το αίμα. Γενικά θεωρείται ότι μετά από μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (1-2 ποτά) η αιθανόλη παύει να είναι ανιχνεύσιμη στο αίμα, στα ούρα και στον εκπνεόμενο αέρα εντός περίπου 2-4 ωρών, ενώ μετά από βαριά κατανάλωση ο χρόνος ανίχνευσης μπορεί να παραταθεί έως και τις 12 ώρες.^{1,16,28}

Για την εκτίμηση της συγκέντρωσης αιθανόλης στο αίμα σε χρονική στιγμή προ της μέτρησης χρησιμοποιείται συχνά η εξίσωση του Widmark η οποία περιεγράφηκε το 1932 και εξακολουθεί να εφαρμόζεται εκτενώς στην ιατροδικαστική πράξη. Ωστόσο όταν οι συγκεντρώσεις αιθανόλης μειωθούν κάτω από περίπου 0.2g/L η κινητική απομάκρυνσης ενδέχεται να αποκλίνει από την κινητική μηδενικής τάξης και να προσεγγίζει κινητική πρώτης τάξης. Στις περιπτώσεις αυτές, η εφαρμογή της εξίσωσης Widmark μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβείς υπολογισμούς και απαιτούνται πιο σύνθετα φαρμακοκινητικά μοντέλα εκθετικής αποδόμησης (exponential decay models).¹³

Έμμεσοι Βιοδείκτες

Μεθανόλη

Μικρές ποσότητες μεθανόλης περιέχονται φυσιολογικά σε πολλά αλκοολούχα ποτά, ενώ ενδογενής παραγωγή μεθανόλης μπορεί επίσης να προκύψει από το μεταβολισμό τροφικών συστατικών. Τόσο η αιθανόλη όσο και η μεθανόλη αποτελούν υποστρώματα της αλκοολικής δεϋδρογονάσης. Ωστόσο, λόγω της σημαντικά μεγαλύτερης συγγένειας της αιθανόλης για το ένζυμο, ο μεταβολισμός της μεθανόλης αναστέλλεται ανταγωνιστικά. Ως αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις μεθανόλης στο αίμα αυξάνονται κατά τη διάρκεια κατανάλωσης αλκοόλ και παραμένουν αυξημένες ακόμη και μετά την πλήρη απομάκρυνση της αιθανόλης από την κυκλοφορία. Επομένως αυξημένες συγκεντρώσεις μεθανόλης στο αίμα (πχ $>10\text{mg/L}$) μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτης παρατεταμένης κατανάλωσης αλκοόλ που έλαβε χώρα τις προηγούμενες αρκετές ώρες.¹⁶

Ηπατικά ένζυμα

Τα αυξημένα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων γGT, AST, ALT στον ορό ή στο πλάσμα αποτελούν δείκτες ηπατοκυτταρικής βλάβης. Δεδομένου ότι ο μεταβολισμός της αιθανόλης λαμβάνει χώρα κυρίως στο ήπαρ, είναι και ο βασικός ιστός που δέχεται τη τοξική δράση του αλκοόλ. Συνήθως τα ηπατικά ένζυμα αυξάνονται όταν αρχίζει να εγκαθίσταται αλκοολική ηπατική νόσος, η οποία προκαλείται από συνεχόμενη μέτρια προς βαριά έκθεση σε αλκοόλ. Η κατανάλωση 60-70g αιθανόλης την εβδομάδα για μερικές εβδομάδες μπορεί επίσης να οδηγήσει σε αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Η μεμονωμένη οξεία κατανάλωση αλκοόλ, απουσία χρόνιας υπερκατανάλωσης έχει συνήθως ελάχιστη ή μηδαμινή επιρροή στις συγκεντρώσεις των ηπατικών ενζύμων.^{2,10}

Η γGT εμφανίζει μέτρια ευαισθησία αλλά περιορισμένη ειδικότητα για την αναγνώριση ατόμων με χρόνια υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, ενώ οι AST και ALT παρουσιάζουν επίσης χαμηλή διαγνωστική ακρίβεια όταν αξιολογούνται μεμονωμένα. Η συνδυαστική αξιολόγηση των τριών δεικτών μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την ευαισθησία και την διαγνωστική τους απόδοση.

Η AST και η ALT απαιτούν την ενεργό μορφή της B6 ως συνένζυμο. Στους χρόνιους αλκοολικούς ασθενείς η ανεπάρκεια της βιταμίνης B6 επηρεάζει περισσότερο τη δραστηριότητα της ALT σε σχέση με την AST, και έτσι μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το λόγο AST/ALT. Λόγος AST/ALT >2 θεωρείται σημαντική ένδειξη αλκοολικής ηπατικής νόσου. Συνεπώς, τα ηπατικά ένζυμα μπορούν λοιπόν να συμβάλλουν στην αναγνώριση εγκατεστημένης ηπατικής βλάβης που σχετίζεται με χρόνια υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ αλλά έχουν περιορισμένη αξία στην πρώιμη αναγνώριση επιβλαβούς χρήσης αλκοόλ. Επιπλέον, η αύξηση τους δεν είναι ειδική για την αλκοολικής αιτιολογίας ηπατική βλάβη και ως εκ τούτου, δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μεμονωμένα για την εκτίμηση της κατανάλωσης αλκοόλ.^{2,10}

MCV (Mean Corpuscular Volume)

Ο μέσος όγκος ερυθρών MCV αποτελεί αιματολογικό δείκτη, που συμπεριλαμβάνεται στη γενική αίματος και εκφράζει το μέσο μέγεθος των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος. Η μακροκυττάρωση και η μακροκυτταρική αναιμία παρατηρούνται συχνά σε άτομα με χρόνια υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ. Η αιθανόλη και οι μεταβολίτες της όπως η ακεταλδεϋδη ασκούν άμεση τοξική δράση στο μυελό των οστών και στα πρόδρομα αιμοποιητικά κύτταρα, επηρεάζοντας την ωρίμανση και τη μορφολογία των ερυθροκυττάρων. Επιπλέον, οι διατροφικές ελλείψεις ιδιαίτερα του φυλλικού οξέος, οι οποίες είναι συχνές στου χρόνιους αλκοολικούς ασθενείς συμβάλλουν επίσης στην εμφάνιση μακροκυττάρωσης.^{2,10}

Δεδομένου ότι η διάρκεια ζωής των ερυθροκυττάρων είναι περίπου 120 ημέρες, απαιτούνται αρκετές εβδομάδες έως μήνες συνεχούς υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ προκειμένου το MCV να αυξηθεί και να αντανakλά τις συνήθειες κατανάλωσης του ατόμου. Ως βιοδείκτης κατανάλωσης αλκοόλ, το mcn παρουσιάζει περιορισμένη ευαισθησία και ειδικότητα, καθώς η μακροκυττάρωση μπορεί να οφείλεται και σε πολλές άλλες καταστάσεις όπως ανεπάρκεια βιταμίνης B12 ή φυλλικού οξέος, ηπατική νόσο, υποθυρεοειδισμό και μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα.^{2,10}

CDT% (Carbohydrate-Deficient Transferrin)

Η τρανσφερίνη ελλιπής σε υδατάνθρακες (carbohydrate-deficient transferrin, CDT) αποτελεί ισομορφή της τρανσφερίνης, μιας γλυκοπρωτεΐνης που είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του σιδήρου στο πλάσμα. Η χρόνια και υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ επηρεάζει τη διαδικασία γλυκοζυλίωσης της τρανσφερίνης, οδηγώντας σε μείωση του αριθμού των τελικών υπολειμμάτων σιαλικού οξέος και, κατ' επέκταση, σε αύξηση του ποσοστού της CDT στον ορό. Φυσιολογικά η CDT αντιπροσωπεύει λιγότερο από το 2% της συνολικής τρανσφερίνης. Αύξηση των επιπέδων της παρατηρείται συνήθως μετά από κατανάλωση περίπου 60-80g αιθανόλης ημερησίως για τουλάχιστον δυο εβδομάδες πριν από τη μέτρηση, ενώ τα επίπεδα της επανέρχονται στα φυσιολογικά όρια εντός 2-3 εβδομάδων μετά από πλήρη αποχή από το αλκοόλ. Η CDT% θεωρείται ένας από τους πλέον ειδικούς έμμεσους βιοδείκτες χρόνιας υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ. Ωστόσο η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της απαιτεί προσοχή καθώς διάφοροι παράγοντες, όπως ορισμένες ηπατικές παθήσεις, η εγκυμοσύνη και γενετικές παραλλαγές της τρανσφερίνης ενδέχεται να επηρεάσουν τις συγκεντρώσεις της.^{2,10}

Συνολικά οι έμμεσοι βιοδείκτες μπορούν να παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την χρόνια και υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, ωστόσο κανένας από αυτούς δεν διαθέτει επαρκή ευαισθησία και ειδικότητα ώστε να χρησιμοποιείται μεμονωμένα για τη διάγνωση ή την παρακολούθηση της κατανάλωσης αλκοόλ. Για το λόγο αυτό, η αξιολόγηση τους πρέπει πάντοτε να γίνεται σε συνδυασμό με το κλινικό ιστορικό, τα ερωτηματολόγια προβληματικής χρήσης αλκοόλ και, όπου είναι δυνατόν, με άμεσους βιοδείκτες έκθεσης στην αιθανόλη.

Σε αντίθεση με τους έμμεσους βιοδείκτες, οι άμεσοι βιοδείκτες αποτελούν προϊόντα του μεταβολισμού της αιθανόλης ή σχηματίζονται αποκλειστικά παρουσία αυτής και, ως εκ τούτου, χαρακτηρίζονται από υψηλή ειδικότητα ως προς την έκθεση σε αλκοόλ.

Ορισμένοι από αυτούς, όπως το αιθυλογλυκουρονίδιο (EtG) και το αιθυλοσουλφίδιο (EtS), διαθέτουν σχετικά σύντομο χρόνο ανίχνευσης και είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι για την τεκμηρίωση πρόσφατης κατανάλωσης. Αντίθετα βιοδείκτες όπως η φωσφατιδυλοαιθανόλη (PEth) και οι αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAEE) παραμένουν ανιχνεύσιμοι για μεγαλύτερο διάστημα και χρησιμοποιούνται κυρίως για την εκτίμηση χρόνιας ή επαναλαμβανόμενης κατανάλωσης αλκοόλ.

Άμεσοι Βιοδείκτες

PEth (Phosphatidyl-ethanol)

Η φωσφατιδυλοαιθανόλη PEth αποτελεί ομάδα μη τυπικών φωσφολιπιδίων που σχηματίζονται αποκλειστικά παρουσία αιθανόλης και διαφέρουν ως προς το μήκος και το βαθμό κορεσμού των αλυσίδων λιπαρών οξέων τους. Συντίθεται στις κυτταρικές μεμβράνες, κυρίως των ερυθροκυττάρων, μέσω αντίδρασης μεταξύ της αιθανόλης και της φωσφατιδυλοχολίνης (συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών) που καταλύεται από το ένζυμο φωσφολιπάση D. Η φωσφατιδυλοαιθανόλη αρχίζει να σχηματίζεται σύντομα μετά την κατανάλωση αλκοόλ, επιτυγχάνει μέγιστες συγκεντρώσεις περίπου 8 ώρες μετά την πρόσληψη και μπορεί να παραμείνει ανιχνεύσιμη στο αίμα έως και 2-4 εβδομάδες, λόγω του σχετικά μεγάλου χρόνου ημιζωής της (περίπου 4-7 ημέρες). Η συγκέντρωση της PEth σχετίζεται με την ποσότητα και τη συχνότητα κατανάλωσης αλκοόλ, γεγονός που τη καθιστά χρήσιμο βιοδείκτη χρόνιας ή επαναλαμβανόμενης χρήσης. Παρότι δεν υπάρχει πλήρης τυποποίηση των αναλυτικών μεθόδων και των ορίων αναφοράς, συγκεντρώσεις άνω των 20ng/ml θεωρούνται σημαντική ένδειξη για τη κατανάλωση αλκοόλ, ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα και συχνότητα κατανάλωσης.^{10,16,29}

FAEE (Fatty Acid Ethyl Esters)

Οι αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAEE) αποτελούν μη οξειδωτικούς μεταβολίτες της αιθανόλης. Σχηματίζονται μέσω ενζυμικής εστεροποίησης της αιθανόλης με ενδογενή λιπαρά οξέα, τριγλυκερίδια, λιποπρωτεΐνες και φωσφολιπίδια. Στο αίμα οι συγκεντρώσεις τους μειώνονται σχετικά γρήγορα και συνήθως καθίσταται μη ανιχνεύσιμες εντός 24 ωρών από τη κατανάλωση αλκοόλ. Εξαιτίας του περιορισμένου χρόνου ανίχνευσης δεν έχουν μεγάλη κλινική χρησιμότητα συγκριτικά με άλλους βιοδείκτες.¹⁰

Πίνακας 2 Σύγκριση έμμεσων και άμεσων βιοδεικτών

Βιοδείκτης	Ερμηνεία σχετικά με τη χρήση
Αιθανόλη (αίμα)	- Πολύ πρόσφατη κατανάλωση. - Ανιχνεύσιμη συνήθως έως 6-12 ώρες μετά τη κατανάλωση, ανάλογα με την ποσότητα
ΕΜΜΕΣΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ	
Μεθανόλη (αίμα)	- Πρόσφατη βαριά κατανάλωση. - Παραμένει αυξημένη για ώρες.
AST/ALT>2 (αίμα)	Μακροχρόνια βαριά χρήση όπου έχει προκληθεί ηπατική βλάβη.
MCV (αίμα)	- Σημαντική κατανάλωση επι αρκετούς μήνες. - Επιστροφή σε φυσιολογικές τιμές σε 2-4 μήνες αποχής
CDT% (αίμα)	- Βαριά κατανάλωση εβδομάδων-μηνών. - Επιστροφή σε φυσιολογικές τιμές σε 2-5 εβδομάδες (χρόνος ημιζωής 10-15 μέρες) αποχής.
ΑΜΕΣΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ	
Peth (αίμα)	- Πολύ ειδικός δείκτης επαναλαμβανόμενης ή χρόνιας κατανάλωσης. >20ng/mL ερμηνεύεται ως σημαντική ένδειξη αλκοόλ για κατανάλωση τις προηγούμενες αρκετές μέρες. - Η τιμή αυξάνεται ανάλογα της τακτικής ποσότητας κατανάλωσης αιθανόλης. - Επιστροφή σε φυσιολογικές τιμές σε περίπου 30 ημέρες.
FAEE (αίμα)	- Πρόσφατη κατανάλωση, η αύξηση της συγκέντρωσης ομοιάζει με την αιθανόλη. - Ανιχνεύσιμοι μόνο το πρώτο 24ωρο.
ETG (ούρα)	- Κατανάλωση τις τελευταίες μέρες. - Παράθυρο εντοπισμού 20-48 ώρες σε μεμονωμένο επεισόδιο κατανάλωσης τις προηγούμενες μέρες 40-130 ώρες σε επαναλαμβανόμενη βαριά κατανάλωση
ETG (αίμα)	- Πρόσφατη κατανάλωση. - Μέχρι και 8 ώρες από την αρνητικοποίηση της αιθανόλης
ETS Blood	- Πρόσφατη κατανάλωση. - Παρόμοια κινητική με EtG – χρήση για επιβεβαίωση αποτελεσμάτων

Αιθυλικό γλυκουρονίδιο (EtG), Αιθυλικό σουλφίδιο (EtS)

Μεταξύ των άμεσων βιοδεικτών, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν το αιθυλογλυκουρονίδιο (EtG) και το αιθυλοσουλφίδιο (EtS), καθώς συνδυάζουν υψηλή ειδικότητα έναντι της έκθεσης στην αιθανόλη με σχετικά σύντομο χρόνο ανίχνευσης, γεγονός που τους καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμους για την τεκμηρίωση πρόσφατης

κατανάλωσης αλκοόλ. Για το λόγο αυτό, οι δύο αυτοί βιοδείκτες θα αναλυθούν εκτενέστερα στην επόμενη ενότητα.

EtG & EtS

Ιστορική Αναδρομή

Το αιθυλογλυκουρονίδιο EtG αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του 1950 κατά τη μελέτη των μη οξειδωτικών μεταβολικών οδών της αιθανόλης. Σε πειραματικές μελέτες χορηγήθηκαν αυξανόμενες δόσεις αιθανόλης σε κουνέλια και ανιχνεύθηκε στα ούρα τους ένα προϊόν σύζευξης της αιθανόλης με γλυκουρονικό οξύ, το οποίο ταυτοποιήθηκε ως ETG. Η ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε μέσω παρασκευής του τριακυλομεθυλεστερικού παραγώγου του και προσδιορισμού του σημείου τήξης του. Οι διαθέσιμες τότε αναλυτικές τεχνικές, πριν την καθιέρωση των χρωματογραφικών μεθόδων, ήταν ιδιαίτερα επίπονες και χρονοβόρες και βασίζονταν κυρίως σε φυσικοχημικές ιδιότητες των παραγώγων των προς μελέτη ουσιών.⁷

Κατά τις δεκαετίες του 1970-80, η εισαγωγή της αέριας χρωματογραφίας μάζας (GC-MS) στην αναλυτική τοξικολογία επέτρεψε τον ακριβέστερο προσδιορισμό φαρμάκων και των μεταβολιτών τους στα βιολογικά υγρά. Στο πλαίσιο αυτό αναπτύχθηκαν οι πρώτες χρωματογραφικές μέθοδοι για το προσδιορισμό του EtG στον ορό και στη συνέχεια στα ούρα επιτρέποντας την ανίχνευση του σε συγκεντρώσεις της τάξης των 0.1 mg/L.⁷

Η ευρύτερη διάδοση των χρωματογραφικών τεχνικών κατά τη δεκαετία του 1990 οδήγησε στη σημαντική αύξηση του ερευνητικού ενδιαφέροντος για τους μη οξειδωτικούς μεταβολίτες της αιθανόλης ως βιοδείκτες πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ. Παράλληλα η ανάπτυξη ανοσοχημικών μεθόδων ανίχνευσης του EtG στα ούρα, κατέστησε εφικτό τον ταχύτερο και οικονομικότερο έλεγχο μεγάλου αριθμού δειγμάτων.⁷

Φαρμακοκινητική

Η φαρμακοκινητική του αιθυλογλυκουρονιδίου (EtG) και του αιθυλοσουλφιδίου (EtS) καθορίζει το χρονικό παράθυρο ανίχνευσης τους και κατ' επέκταση, τη χρησιμότητα τους ως βιοδείκτες πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλης. Σε αντίθεση με την αιθανόλη, η οποία απομακρύνεται σχετικά γρήγορα από την κυκλοφορία μέσω του οξειδωτικού μεταβολισμού, το EtG και το EtS παραμένουν ανιχνεύσιμα για σημαντικά μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ακόμη και μετά την πλήρη απομάκρυνση της αιθανόλης από το αίμα. Για το λόγο αυτό, οι δύο μεταβολίτες αποτελούν ιδιαίτερα χρήσιμους δείκτες για την τεκμηρίωση πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ όταν η μέτρηση της αιθανόλης είναι πλέον αρνητική. Το EtS χρησιμοποιείται συνήθως συμπληρωματικά με το EtG καθώς η παράλληλη ανίχνευση τους αυξάνει τη διαγνωστική αξιοπιστία και μειώνει τη πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Παρότι οι δυο μεταβολίτες παρουσιάζουν

παρόμοια συμπεριφορά ως προϊόντα του μη μη οξειδωτικού μεταβολισμού της αιθανόλης, εμφανίζουν ορισμένες μικρές διαφορές ως προς τη φαρμακοκινητική και τη σταθερότητα τους μετά τη συλλογή του δείγματος.^{1,11,16}

Απορρόφηση και σχηματισμός

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο του μεταβολισμού της αιθανόλης, μετά την κατανάλωση το 95% της προσλαμβανόμενης αιθανόλης μεταβολίζεται μέσω οξειδωτικών οδών στο ήπαρ, ενώ λιγότερο από το <0.2% υφίσταται μη οξειδωτικό μεταβολισμό. Η σύζευξη της αιθανόλης με γλυκουρονικό οξύ μέσω των ενζύμων UGT οδηγεί στον σχηματισμό του αιθυλογλυκουρονίου EtG, ενώ η σύζευξη με θειικές ομάδες μέσω των SULT οδηγεί στο σχηματισμό του αιθυλοσουλφιδίου EtS. Παρά τη μικρή ποσότητα σχηματισμού τους σε σύγκριση με την ποσότητα της κυκλοφορούσας αιθανόλης, παρουσιάζουν εξαιρετικά υψηλή ειδικότητα καθώς η παρουσία τους προϋποθέτει προηγούμενη έκθεση σε αιθανόλη.

Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τη σχέση μεταξύ της προσλαμβανόμενης δόσης αιθανόλης και του σχηματισμού EtG και EtS, καταλήγοντας σε γραμμικές ή μη γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ της δόσης αιθανόλης και των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών σε αίμα, ορό και ούρα. Τα διαθέσιμα δεδομένα υποδεικνύουν ότι, αν και η μεγαλύτερη κατανάλωση αιθανόλης οδηγεί γενικά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις EtG και EtS, η αναλογία μεταξύ της δόσης αιθανόλης και της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου (AUC) επηρεάζεται πιθανώς από επιπλέον παράγοντες όπως η δυναμικότητα των μεταβολικών οδών και ο πιθανός κορεσμός των ενζυμικών μηχανισμών. Επομένως, τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά των δυο μεταβολιτών σε διαφορετικά επίπεδα κατανάλωσης και σε διαφορετικά γενετικά υπόβαθρα δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινιστεί.¹³

Για την περιγραφή της φαρμακοκινητικής του EtG και του EtS στο αίμα στα πλαίσια της παρούσας εργασίας χρησιμοποιούνται δεδομένα από δύο μελέτες ελεγχόμενης χορήγησης αιθανόλης σε υγιείς εθελοντές. Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι που προέκυψαν βρίσκονται γενικά εντός των ορίων που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία, παρουσιάζοντας μόνο μικρές αποκλίσεις μεταξύ των μελετών.

Στην εικόνα 4 απεικονίζονται οι καμπύλες συγκέντρωσης χρόνου στο αίμα αιθανόλης, EtG και EtS στα πλαίσια πειράματος. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, με τη μια να καταναλώνει υψηλή δόση αιθανόλης (1g/kg) και η δεύτερη μικρή δόση αιθανόλης (0.2g/kg). Έγιναν διαδοχικές μετρήσεις κάθε μισή ώρα μέχρι τη 10^η ώρα και μετά μια επιπλέον μέτρηση στις 24 ώρες. Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση της αιθανόλης επιτυγχάνει γρήγορα τη μέγιστη τιμή της στο αίμα εντός 1-2 ώρες από την κατανάλωση και μειώνεται γρήγορα στη συνέχεια. Σε αντίθεση οι συγκεντρώσεις EtG και EtS εμφανίζουν καθυστερημένη επίτευξη της μέγιστης συγκέντρωσης και παρατεταμένη παραμονή στο αίμα. Στην εικόνα 3 σε αντίστοιχο πείραμα διακρίνονται

καλύτερα οι καμπύλες και οι διαφορές των EtOH, EtG και EtS στο χρόνο εμφάνισης (T_{max}) της μέγιστης συγκέντρωσης C_{max} .^{3,13}

Οι τιμές τις φαρμακοκινητικής που υπολογίστηκαν ήταν :

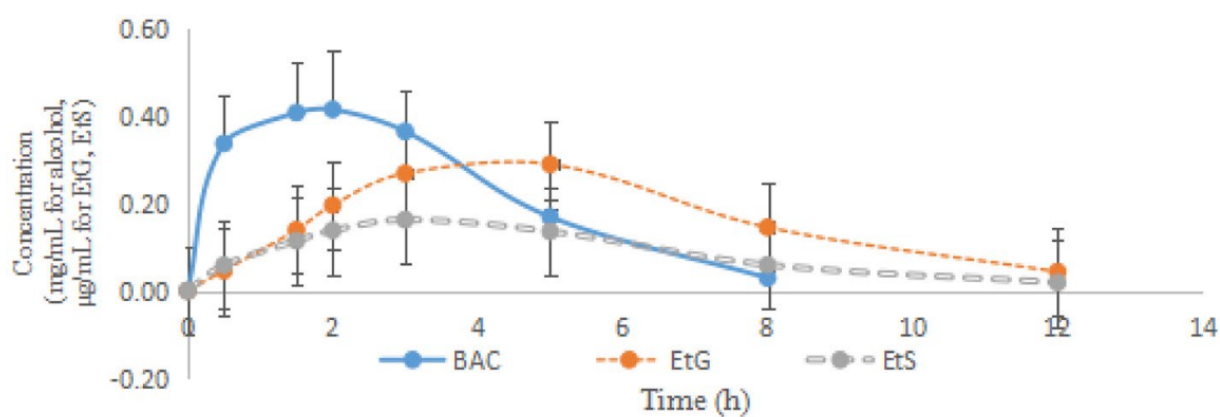
	Αιθανόλη	EtG	EtS
$t_{1/2}$ (h)	1.24 ± 1.09 (0.30–4.23)	2.56 ± 0.89 (1.03–4.94)	2.04 ± 0.76 (1.11–3.32)
T_{max} (h)	2.02 ± 0.54 (1.50–3.00)	4.12 ± 1.07 (2.00–5.00)	3.02 ± 0.70 (1.50–5.00)
C_{max} (mg/L)	441.65 ± 113.86 (238.20–656.00)	0.31 ± 0.11 (0.13–0.53)	0.17 ± 0.04 (0.08–0.28)

3

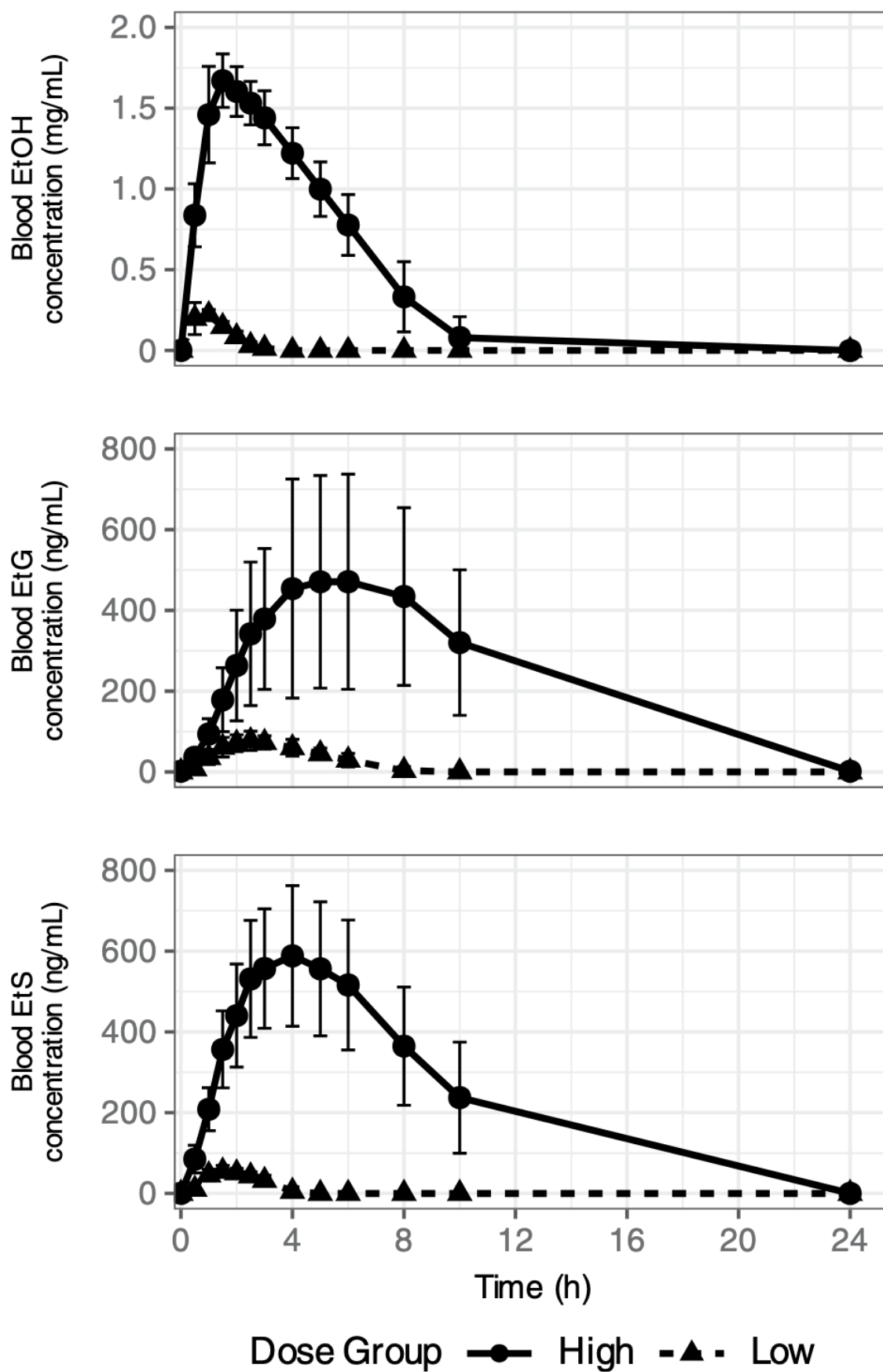
Παράθυρο εντοπισμού

Αλκοόλ (h)	EtG (h)	EtS (h)
5.81 ± 1.74 (3.00–8.00)	22.15 ± 4.42 (12.00–24.00)	16.92 ± 6.23 (8.00–24.00)

3



Εικόνα 3 Καμπύλες συγκέντρωσης αιθανόλης, EtG και EtS μετά απο κατανάλωση συγκεκριμένης ποσότητας αιθανόλης³



Εικόνα 4 Καμπύλες συγκέντρωσης αιθανόλης, EtG και EtS μετά απο κατανάλωση μεγάλης και μικρής ποσότητας αιθανόλης¹³

Χρόνος εμφάνισης, μέγιστη συγκέντρωση και αποβολή

Η συγκέντρωση των EtG και EtS στο αίμα επηρεάζεται από δυο αντιρροπούμενες διαδικασίες, τη ποσότητα του καταναλούμενου αλκοόλ και το χρόνο που έχει μεσολαβήσει μεταξύ της κατανάλωσης και της δειγματοληψίας.

Μετά την κατανάλωση αλκοόλης, οι συγκεντρώσεις του EtG και του EtS στο αίμα αυξάνονται προοδευτικά καθώς η αιθανόλη μεταβολίζεται μέσω της μη οξειδωτικής οδού. Οι δύο μεταβολίτες εμφανίζονται στην κυκλοφορία λίγο μετά την απορρόφηση της αιθανόλης και μετρήσιμες συγκεντρώσεις μπορούν να ανιχνευθούν σε λιγότερο από 60 λεπτά τόσο στο αίμα όσο και στα ούρα.^{3,30}

Η μέγιστη συγκέντρωση του EtG και του EtS μετράται 3,5-5,5 ώρες μετά τη κατανάλωση, καθυστέρηση η οποία αντισταθμίζεται στο χρόνο που απαιτείται ο σχηματισμός και η συσσώρευση τους στο αίμα. Το EtG εμφανίζει συνήθως υψηλότερη μέγιστη συγκέντρωση στο αίμα 0.31 ± 0.11 mg/L συγκριτικά με το EtS 0.17 ± 0.04 mg/L.³

Ο χρόνος ημιζωής, δηλαδή ο χρόνος που χρειάζεται μια ουσία για να μειωθεί στο μισό η συγκέντρωσή της στον οργανισμό, μετράται σε $2,56 \pm 0,89$ ώρες για το EtG, και $2,04 \pm 0,76$ ώρες για το EtS ενώ για την αιθανόλη είναι σημαντικά μικρότερος $1,24 \pm 1,09$. Παρότι λοιπόν, οι τιμές των χρόνων ημιζωής των δυο μεταβολιτών είναι σχετικά σύντομοι και υποδηλώνουν σχετικά γρήγορη αποβολή από το αίμα, παραμένουν ανιχνεύσιμοι για σημαντικά μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με την ίδια την αιθανόλη, προσφέροντας ένα διευρυμένο παράθυρο ανίχνευσης της πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ.³

Μετά τις 24 ώρες οι μεταβολίτες δεν ανιχνεύονται στο αίμα. Το παράθυρο ανίχνευσης του EtG κυμαίνεται από την πρώτη ώρα κατανάλωσης αλκοόλ έως και 8 ώρες μετά την αρνητικοποίηση της αιθανόλης, ενώ το EtS παραμένει έως και δυο φορές περισσότερο από ότι η αιθανόλη.^{3,16}

Βιολογικά υλικά και Σύγκριση Αίματος με τα Ούρα

Το αιθυλογλυκουρονίδιο και το αιθυλοσουλφίδιο μπορούν να ανιχνευθούν σε πληθώρα βιολογικών υλικών, γεγονός που έχει συμβάλει και στη καθιέρωση τους ως ειδικούς βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ. Εκτός από το αίμα, όπου αντανakλούν σχετικά πολύ πρόσφατη κατανάλωση οι δυο μεταβολίτες έχουν ανιχνευθεί σε ούρα, ιδρώτα, τρίχες, σάλιο, μηκύνιο, πλακούντα και σε μεταθανάτια δείγματα ιστών. Τα διάφορα βιολογικά υλικά προσφέρουν διαφορετικά χρονικά παράθυρα ανίχνευσης και εξυπηρετούν διαφορετικές κλινικές και ιατροδικαστικές εφαρμογές.

Από όλα τα διαθέσιμα βιολογικά υλικά τα ούρα αποτελούν το συχνότερα χρησιμοποιούμενο δείγμα για την ανίχνευση των EtG και EtS κυρίως λόγω του μεγαλύτερου χρονικού παραθύρου ανίχνευσης συγκριτικά με το αίμα και της εύκολης, μη επεμβατικής συλλογής τους. Μετρήσιμες συγκεντρώσεις των δύο μεταβολιτών

εμφανίζονται στα ούρα σε λιγότερο από μία ώρα από την κατανάλωση αλκοόλ, δηλαδή λίγο αργότερα από την εμφάνιση τους στο αίμα. Το παράθυρο εντοπισμού εδώ διευρύνεται σημαντικά και έτσι μετά από μια μεμονωμένη κατανάλωση αλκοόλ παραμένουν ανιχνεύσιμοι για 20-48 ώρες ενώ σε περιπτώσεις βαριάς επαναλαμβανόμενης κατανάλωσης αλκοόλ παραμένουν ανιχνεύσιμοι για 40-130 ώρες μετά το τελευταίο ποτό. Τυπικά χρησιμοποιούμενα όρια θετικότητας θεωρούνται τα 100-500 ng/mL (0.1-0.5 mg/L) για το EtG και τα 25 ng/mL (0.025 mg/L) για το EtS.^{13,16}

Οι συγκεντρώσεις των EtG και EtS στα ούρα είναι περίπου 100-200 φορές υψηλότερες σε σύγκριση με τον ορό, γεγονός που εξηγεί τη μεγαλύτερη διάρκεια ανίχνευσης τους και καθιστά τα ούρα το βιολογικό υλικό για το οποίο υπάρχει η περισσότερη ερευνητική και κλινική εμπειρία. Παράλληλα η συλλογή των ούρων είναι απλή, μη επεμβατική και επιτρέπει τον ταυτόχρονο έλεγχο και άλλων ουσιών ή μεταβολιτών.³⁰

Παρά τα πλεονεκτήματα τους τα ούρα παρουσιάζουν ορισμένους περιορισμούς που κάνουν καταλληλότερη τη χρήση του αίματος σε ορισμένες κλινικές και ιατροδικαστικές εφαρμογές.

Σε κλινικά περιβάλλοντα, όπως στα τμήματα επειγόντων περιστατικών, η λήψη δείγματος ούρων μπορεί να είναι αδύνατη ή να καθυστερεί σημαντικά. Αντίθετα, η λήψη αίματος αποτελεί συνήθη πρακτική και επομένως ο προσδιορισμός των βιοδεικτών στο αίμα μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί στον εργαστηριακό έλεγχο σε συνδυασμό με έμμεσους βιοδείκτες κατανάλωσης αλκοόλ όπως η γGT, το CDT% και το MCV.^{16,30}

Επιπλέον, η χρήση των ούρων σε εφαρμογές νομικού και ιατροδικαστικού ενδιαφέροντος συνοδεύεται από προβλήματα αξιοπιστίας. Η συλλογή τους δεν μπορεί πάντοτε να πραγματοποιηθεί υπό άμεση επιτήρηση, με αποτέλεσμα να είναι δυνατή η παραποίηση του δείγματος. Η υπερβολική πρόσληψη υγρών, η χρήση διουρητικών ή ακόμη και η υποκατάσταση του δείγματος από ούρα άλλου ατόμου μπορούν να οδηγήσουν σε αραίωση των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών και σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Αντίθετα, η συγκέντρωση των EtG και EtS στο αίμα επηρεάζεται πολύ λιγότερο από τέτοιους παράγοντες και η δειγματοληψία είναι δυσκολότερο να παραποιηθεί.¹⁶

Η μεγάλη ευαισθησία των αναλύσεων στα ούρα δημιουργεί επίσης προβλήματα ερμηνείας των αποτελεσμάτων. Έχουν περιγραφεί ψευδώς θετικά αποτελέσματα μετά από έκθεση σε προϊόντα που περιέχουν αιθανόλη, όπως αλκοολούχα στοματικά διαλύματα ή αντισηπτικά διαλύματα υψηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη. Για το περιορισμό αυτού του κινδύνου έχει προταθεί η χρήση υψηλότερου ορίου θετικότητας, όπως τα 500 ng/ml για το EtG στα ούρα, αν και το όριο αυτό ενδέχεται να είναι υπερβολικά υψηλό για ορισμένες κλινικές εφαρμογές.¹⁶

Τέλος, ένα σημαντικό μειονέκτημα της μεγάλης ευαισθησίας και του μεγάλου παραθύρου ανίχνευσης των EtG και EtS στα ούρα δυσχεραίνει την ερμηνεία των

αποτελεσμάτων. Συγκεκριμένα μια θετική μέτρηση μπορεί να αντιστοιχεί είτε σε μικρή και πρόσφατη κατανάλωση είτε σε μεγαλύτερη κατανάλωση που έλαβε χώρα αρκετές ημέρες νωρίτερα. Αντίθετα η μικρότερη διάρκεια ανίχνευσης των βιοδεικτών στο αίμα αντανakλά καλύτερα την πρόσφατη κατανάλωση αλκοόλ και μπορεί να προσφέρει ακριβέστερη χρονική εκτίμηση του τελευταίου επεισοδίου κατανάλωσης.¹⁶

Συνολικά, τα EtG και EtS μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες πολύ πρόσφατης κατανάλωσης όταν προσδιορίζονται στο αίμα και ως δείκτες κατανάλωσης των τελευταίων ημερών όταν μετρώνται στα ούρα. Τα δυο βιολογικά υγρά αποκτούν μεγαλύτερη χρησιμότητα όταν χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά καθώς κάθε ένα παρέχει διαφορετικού τύπου πληροφορίες σχετικά με το ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ.²

Αναλυτική Μέθοδος

Ανοσοχημικές μέθοδοι

Αρχή των ανοσοχημικών μεθόδων αποτελεί η ειδική αντίδραση αντιγόνου – αντισώματος. Για τον προσδιορισμό του EtG στα ούρα διατίθενται τυποποιημένα και ευρέως διαθέσιμα τεστ που βασίζονται σε ανοσοχημικές μεθόδους. Με ανοσοχημικές δοκιμασίες προσδιορίζεται συνήθως μόνο το EtG και όχι το EtS.¹⁶

Οι ανοσοχημικές μέθοδοι παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία και είναι κατάλληλες για έλεγχο διαλογής (screening) καθώς χαρακτηρίζονται από ταχύτητα, σχετικά χαμηλό κόστος και δυνατότητα αυτοματοποίησης. Ωστόσο η ειδικότητα τους είναι περιορισμένη και ενδέχεται να επηρεαστούν από φαινόμενα διασταυρούμενης αντιδραστικότητας. Ειδικότερα, έχουν αναφερθεί ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω παρουσίας γλυκουρονιδίων άλλων αλκοολών, όπως η προπυλική και η ισοπροπυλική αλκοόλη, οι οποίες περιέχονται συχνά σε αντισηπτικά και απολυμαντικά προϊόντα. Επιπλέον ψευδώς θετικά αποτελέσματα έχουν περιγραφεί μετά από χορήγηση ένυδρης χλωράλης (chloral hydrate), μιας φαρμακευτικής ουσίας που σπάνια χρησιμοποιείται ως ηρεμιστικό και συχνότερα στη παρασκευή χημικών ενώσεων. Η παρουσία ένυδρης χλωράλης οδηγεί σε σχηματισμό τριχλωροαιθυλικού γλυκουρονιδίου, το οποίο παρουσιάζει διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τα χρησιμοποιούμενα αντισώματα.¹⁶

Για το λόγο αυτό, κάθε θετικό αποτέλεσμα που προκύπτει από ανοσοχημική δοκιμασία θα πρέπει να διερευνάται με ειδικότερες αναλυτικές τεχνικές όπως η υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μαζών σε σειρά (LC-MS/MS).^{16,31}

Χρωματογραφικές μέθοδοι

Η υγρή χρωματογραφία LC αποτελεί τεχνική διαχωρισμού των συστατικών ενός δείγματος μέσω της διαφορετικής αλληλεπίδρασης τους με μια κινητή και μία στατική

φάση. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός ενώσεων πριν από την ανίχνευση τους. Η φασματομετρία μάζας MS η οποία ακολουθεί μετά τη χρωματογραφία, βασίζεται στον ιονισμό των μορίων και στο διαχωρισμό των παραγόμενων ιόντων σύμφωνα με λόγο μάζας προς φορτίο, επιτρέποντας την ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίηση μορίων με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα.

Οι πλέον διαδεδομένες αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό των βιοδεικτών EtG και EtS είναι η υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS) και κυρίως η υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών σε σειρά (LC-MS/MS). Οι τεχνικές αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλή ευαισθησία, εξαιρετική ειδικότητα και μεγάλη αναλυτική αξιοπιστία, πληρώνοντας τα κριτήρια για την ακριβή ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των δυο βιοδεικτών. Ως εκ τούτου αποτελούν τις μεθόδους αναφοράς για εφαρμογές τόσο στην κλινική όσο και στην ιατροδικαστική τοξικολογία.

Οι χρωματογραφικές μέθοδοι μπορούν να εφαρμοστούν σε πληθώρα βιολογικών υλικών όπως ολικό αίμα, ορός, πλάσμα, ούρα, τρίχες και αποξηραμένες κηλίδες αίματος, με κατάλληλη προσαρμογή της προετοιμασίας του δείγματος. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα τους είναι η δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού του EtG και του EtS στο ίδιο δείγμα, γεγονός που συμβάλλει στην αξιολόγηση της αξιοπιστίας του αποτελέσματος και στην αναγνώριση πιθανών προαναλυτικών ή μεταναλυτικών προβλημάτων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η παρουσία του βακτηρίου *Escherichia coli* στα ούρα, είτε λόγω ουρολοίμωξης είτε εξαιτίας επιμόλυνσης του δείγματος μετά τη συλλογή. Το βακτήριο παράγει το ένζυμο β-γλυκουρονιδάση, το οποίο επηρεάζει τη συγκέντρωση του EtG χωρίς όμως να επηρεάζει τις συγκεντρώσεις του EtS. Η ταυτόχρονη μέτρηση των δύο βιοδεικτών επιτρέπει, επομένως, την αναγνώριση τέτοιων φαινομένων και την ορθότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων.^{16,32}

Επιπλέον, η υψηλή αναλυτική ικανότητα των σύγχρονων συστημάτων LC-MS/MS επιτρέπει την ανάπτυξη πολυαναλυτικών μεθόδων, μέσω των οποίων είναι δυνατός ο ταυτόχρονος προσδιορισμός πολλών βιοδεικτών κατανάλωσης αλκοόλης στο ίδιο δείγμα. Η δυνατότητα αυτή καθιστά τις χρωματογραφικές τεχνικές ιδιαίτερα χρήσιμες τόσο για ερευνητικές εφαρμογές όσο και για την ολοκληρωμένη εργαστηριακή διερεύνηση της πρόσφατης ή χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ.³³

Συμπεράσματα

Η αξιολόγηση και η τεκμηρίωση της κατανάλωσης αλκοόλ αποτελούν διαχρονικά σημαντική πρόκληση τόσο στην κλινική όσο και στην ιατροδικαστική πράξη με πληθώρα εφαρμογών και στα δυο πεδία. Τα ερωτηματολόγια αυτοαναφοράς, τα οποία αποτελούν βασικό εργαλείο διερεύνησης σε κλινικά πλαίσια χαρακτηρίζονται από εγγενή υποκειμενικότητα και η άμεση μέτρηση της αιθανόλης στο αίμα, στα ούρα ή στον εκπνεόμενο αέρα παρέχει αξιόπιστες πληροφορίες μόνο για περιορισμένο χρονικό

διάστημα μετά την κατανάλωση. Οι περιορισμοί αυτοί οδήγησαν στην αναζήτηση συμπληρωματικών βιοδεικτών.

Οι διαθέσιμοι βιοδείκτες διακρίνονται σε έμμεσους και άμεσους και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με το πρότυπο κατανάλωσης αλκοόλ και την εκτίμηση της πρόσφατης ή της χρόνιας έκθεσης στην αιθανόλη. Η μελέτη της φαρμακοκινητικής τους στα διάφορα βιολογικά υλικά έχει συμβάλει στη καλύτερη κατανόηση του χρονικού πλαισίου μέσα στο οποίο κάθε δείκτης μπορεί να αξιοποιηθεί.

Το αιθυλογλυκουρονίδιο (EtG) και το αιθυλοσουλφίδιο (EtS) αποτελούν άμεσους, μη οξειδωτικούς μεταβολίτες της αιθανόλης, των οποίων η παρουσία στα διάφορα βιολογικά υλικά μπορεί να τεκμηριώσει την κατανάλωση αλκοόλ ακόμη και όταν η αιθανόλη δεν είναι πλέον ανιχνεύσιμη. Αν και το βασικό βιολογικό υλικό που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό τους είναι τα ούρα, είναι υλικό επιρρεπές σε παράγοντες που αλλοιώνουν τα αποτελέσματα (πχ κατανάλωση πολύ νερού, διουρητικά ή υποκατάσταση του δείγματος). Η μελέτη της φαρμακοκινητικής τους στα διάφορα βιολογικά υλικά έχει καταδείξει ότι κάθε υλικό παρέχει συμπληρωματικές πληροφορίες σχετικά με το χρόνο κατανάλωσης. Το αίμα αντανakλά κυρίως την πρόσφατη έκθεση στην αιθανόλη, τα ούρα επιτρέπουν την εκτίμηση της κατανάλωσης σε μεγαλύτερο χρονικό παράθυρο, ενώ άλλα υλικά ενδεχομένως να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με πιο μακροχρόνια έκθεση. Επιπλέον, ειδικά βιολογικά υλικά όπως το μηκύνιο εξυπηρετούν εξειδικευμένες εφαρμογές όπως η διερεύνηση της προγεννητικής έκθεσης στο αλκοόλ.

Ειδικότερα, η χρήση του αίματος ως βιολογικού υλικού για τον προσδιορισμό των EtG και EtS προσφέρει το πλεονέκτημα ενός μεγαλύτερου παράθυρου ανίχνευσης συγκριτικά με την άμεση μέτρηση της αιθανόλης. Παράλληλα διευκολύνει την αξιοποίηση τους σε συγκεκριμένα κλινικά και ιατροδικαστικά σενάρια. Το μικρότερο παράθυρο ανίχνευσης σε σύγκριση με τα ούρα ενδέχεται επίσης να συμβάλλει στην ακριβέστερη εκτίμηση του χρόνου της πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλ.

Παρά τη πρόοδο που έχει σημειωθεί, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση και τυποποίηση των φαρμακοκινητικών δεδομένων, ιδιαίτερα για τις συγκεντρώσεις των EtG και EtS στο αίμα καθώς οι διαθέσιμες μελέτες βασίζονται συχνά σε σχετικά μικρό αριθμό συμμετεχόντων. Επιπλέον τα δεδομένα σχετικά με πιθανές διαφορές που σχετίζονται με το φύλο, τη φυλετική προέλευση και τις γενετικές ποικιλομορφίες παραμένουν περιορισμένα.

Τη δεδομένη στιγμή, η συνδυαστική χρήση και αξιολόγηση των βιοδεικτών, ιδανικά σε περισσότερα του ενός βιολογικά υλικά, φαίνεται ότι μπορεί να προσφέρει τη πληρέστερη και πιο αξιόπιστη εικόνα του προτύπου κατανάλωσης αλκοόλ. Η προσέγγιση αυτή συμβάλλει τόσο στην εκτίμηση της πρόσφατης χρήσης όσο και στη

διερεύνηση της χρόνιας κατανάλωσης. Παράλληλα διευρύνει τις δυνατότητες αξιοποίησης των βιοδεικτών σε κλινικά, ιατρονομικά και ιατροδικαστικά πλαίσια.

Πηγές

1. Jones A. Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations. *Wiley Interdiscip Rev Forensic Sci.* 2019;1:e1340. doi:10.1002/wfs2.1340
2. Caputo F, Casabianca A, Lungaro L, et al. Available markers of excessive alcohol use. *Minerva Gastroenterol.* 2025;71(3):282-288. doi:10.23736/S2724-5985.25.03884-7
3. Wang L, Zhang W, Wang R, et al. Estimating the time of last drinking from blood ethyl glucuronide and ethyl sulphate concentrations. *Sci Rep.* 2022;12(1):14262. doi:10.1038/s41598-022-18527-8
4. Zhao J, Stockwell T, Naimi T, Churchill S, Clay J, Sherk A. Association Between Daily Alcohol Intake and Risk of All-Cause Mortality. *JAMA Netw Open.* 2023;6(3):e236185. doi:10.1001/jamanetworkopen.2023.6185
5. Richardson A, Budd T. Young adults, alcohol, crime and disorder. *Crim Behav Ment Health CBMH.* 2003;13(1):5-16. doi:10.1002/cbm.527
6. Wurst FM, Thon N, Yegles M, Schrück A, Preuss UW, Weinmann W. Ethanol Metabolites: Their Role in the Assessment of Alcohol Intake. *Alcohol Clin Exp Res.* 2015;39(11):2060-2072. doi:10.1111/acer.12851
7. Jones AW. Brief history of the alcohol biomarkers CDT, EtG, EtS, 5-HTOL, and PEth. *Drug Test Anal.* 2024;16(6):570-587. doi:10.1002/dta.3584
8. Cederbaum AI. ALCOHOL METABOLISM. *Clin Liver Dis.* 2012;16(4):667-685. doi:10.1016/j.cld.2012.08.002
9. Heier C, Xie H, Zimmermann R. Nonoxidative ethanol metabolism in humans—from biomarkers to bioactive lipids. *Iubmb Life.* 2016;68(12):916-923. doi:10.1002/iub.1569
10. Tawiah KD, Riley SB, Budelier MM. Biomarkers and Clinical Laboratory Detection of Acute and Chronic Ethanol Use. *Clin Chem.* 2022;68(5):635-645. doi:10.1093/clinchem/hvac004
11. Hugbart C, Verres Y, Le Daré B, et al. Non-oxidative ethanol metabolism in human hepatic cells in vitro: Involvement of uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A9 in ethylglucuronide production. *Toxicol Vitro Int J Publ Assoc BIBRA.* 2020;66:104842. doi:10.1016/j.tiv.2020.104842
12. INSERM Collective Expertise Centre. *Alcohol: Health Effects*. Institut national de la santé et de la recherche médicale; 2001. Accessed May 28, 2026. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7116/>

13. Suefusa-Shimogori Y, Wakuda H, Nureki S, et al. Forensic implications of ethyl glucuronide and ethyl sulfate pharmacokinetics in Japanese adults: the influence of dose, genetic polymorphisms, and habitual alcohol consumption. *Forensic Toxicol.* 2026;44(1):152-166. doi:10.1007/s11419-025-00747-y
14. Planning and implementing screening and brief intervention for risky alcohol use : a step-by-step guide for primary care practices. 2014. Accessed May 28, 2026. <https://stacks.cdc.gov>
15. Grüner Nielsen D, Andersen K, Søgaard Nielsen A, Juhl C, Mellentin A. Consistency between self-reported alcohol consumption and biological markers among patients with alcohol use disorder - A systematic review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;124:370-385. doi:10.1016/j.neubiorev.2021.02.006
16. Andresen-Streichert* H, Müller* A, Glahn A, Skopp* G, Sterneck* M. Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. *Dtsch Arztebl Int.* 2018;115(18):309-315. doi:10.3238/arztebl.2018.0309
17. Alvarez MA, Cirera I, Solà R, Bargalló A, Morillas RM, Planas R. Long-term clinical course of decompensated alcoholic cirrhosis: a prospective study of 165 patients. *J Clin Gastroenterol.* 2011;45(10):906-911. doi:10.1097/MCG.0b013e3182284e13
18. Thierauf A, Gnann H, Wohlfarth A, et al. Urine tested positive for ethyl glucuronide and ethyl sulphate after the consumption of “non-alcoholic” beer. *Forensic Sci Int.* 2010;202(1-3):82-85. doi:10.1016/j.forsciint.2010.04.031
19. Palmer RB. A review of the use of ethyl glucuronide as a marker for ethanol consumption in forensic and clinical medicine. *Semin Diagn Pathol.* 2009;26(1):18-27. doi:10.1053/j.semdp.2008.12.005
20. Hirschak KA, Kordas G, Lyons AJ, et al. Investigating Secondary Alcohol Outcomes in a Contingency Management Intervention among American Indian and Alaska Native Adults. *J Addict Med.* 2023;17(3):e177-e182. doi:10.1097/ADM.0000000000001116
21. McDonell MG, Leickly E, McPherson S, et al. Pretreatment ethyl glucuronide levels predict response to a contingency management intervention for alcohol use disorders among adults with serious mental illness. *Am J Addict.* 2017;26(7):673-675. doi:10.1111/ajad.12558
22. Barrio P, Teixidor L, Ortega L, et al. Filling the gap between lab and clinical impact: An open randomized diagnostic trial comparing urinary ethylglucuronide and ethanol in alcohol dependent outpatients. *Drug Alcohol Depend.* 2018;183:225-230. doi:10.1016/j.drugalcdep.2017.11.015
23. Morini L, Marchei E, Vagnarelli F, et al. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium and hair-potential biomarkers of intrauterine exposure to ethanol. *Forensic Sci Int.* 2010;196(1-3):74-77. doi:10.1016/j.forsciint.2009.12.035

24. Yao Y, Wang J, Zhong Y, Chen W, Rao Y, Su M. Investigating alcohol consumption in China via wastewater-based epidemiology. *Environ Geochem Health*. 2024;46(1):24. doi:10.1007/s10653-023-01829-9
25. Wurst FM, Yegles M, Alling C, et al. Measurement of direct ethanol metabolites in a case of a former driving under the influence (DUI) of alcohol offender, now claiming abstinence. *Int J Legal Med*. 2008;122(3):235-239. doi:10.1007/s00414-007-0218-y
26. do Carmo Artmann A, Tegner M, de Souza Guterres F, Frank Bastiani M, Linden R, Venzon Antunes M. Evaluation of harmful drinking among professional drivers by direct ethanol biomarkers and its relation with psychological distress. *Traffic Inj Prev*. 2024;25(6):774-780. doi:10.1080/15389588.2024.2349282
27. Höiseth G, Nilsson GH, Lundberg R, et al. Evaluating the hip-flask defence using analytical data from ethanol and ethyl glucuronide. A comparison of two models. *Forensic Sci Int*. 2020;316:110409. doi:10.1016/j.forsciint.2020.110409
28. Jones A. Pharmacokinetics of Ethanol - Issues of Forensic Importance. *Forensic Sci Rev*. 2011;23:91-136.
29. Ulwelling W, Smith K. The PEth Blood Test in the Security Environment: What it is; Why it is Important; and Interpretative Guidelines. *J Forensic Sci*. 2018;63. doi:10.1111/1556-4029.13874
30. Shukla L, Sharma P, Ganesha S, et al. Value of Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate in Serum as Biomarkers of Alcohol Consumption. *Indian J Psychol Med*. 2017;39(4):481-487. doi:10.4103/IJPSYM.IJPSYM_71_17
31. Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate. In: *Advances in Clinical Chemistry*. Vol 67. Elsevier; 2014:47-71. doi:10.1016/bs.acc.2014.09.006
32. Helander A, Olsson I, Dahl H. Postcollection synthesis of ethyl glucuronide by bacteria in urine may cause false identification of alcohol consumption. *Clin Chem*. 2007;53(10):1855-1857. doi:10.1373/clinchem.2007.089482
33. Hofmann V, Sundermann TR, Schmitt G, Bartel M. Development and validation of an analytical method for the simultaneous determination of the alcohol biomarkers ethyl glucuronide, ethyl sulfate, N-acetyltaurine, and 16:0/18:1-phosphatidylethanol in human blood. *Drug Test Anal*. 2022;14(1):92-100. doi:10.1002/dta.3147