



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ‘ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ’

Διπλωματική Εργασία

**«Δείκτες (μεταβολίτες) για την διαπίστωση της χρόνιας χρήσης /
κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης».**

Φοιτήτρια: Αποστολίδου Ελένη

A.M.: M041816009

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: κ. Κοβάτση Λήδα

Μέλη τριμελούς επιτροπής:

κ.Κοβάτση Λήδα

κ.Κουρέτας Δημήτριος

κ.Τσιτσιμπίκου Χριστίνα

ΛΑΡΙΣΑ 2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μακροχρόνια κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης ή κατάχρηση αλκοόλης μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε σοβαρά προβλήματα υγείας όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, εγκεφαλικές βλάβες, διαβήτης και ηπατοπάθειες. Αυτό οδήγησε τους ερευνητές να εστιάσουν την προσοχή τους στον εντοπισμό χρήσιμων βιοδεικτών με σκοπό την πρόληψη, τη διάγνωση και θεραπεία της αναπτυσσόμενης κατάχρησης αλκοόλης. Υπάρχουν ευαίσθητοι και ειδικευμένοι βιοδείκτες που μπορούν να παράσχουν λεπτομέρειες σχετικά με το επίπεδο κατανάλωσης αλκοόλης όπως είναι οι CDT, EtG, EtS, PEth και FAEE. Ο EtG βρισκόμενος στις τρίχες αποδείχθηκε ο καλύτερος βιοδείκτης για την αξιολόγηση της κατάχρησης αλκοόλης. Λόγω των πολλών περιορισμών των ψευδών αρνητικών-θετικών αποτελεσμάτων κάποιων παραδοσιακών βιοδεικτών που παρατηρούνται σε ασθενείς με συννοσηρότητα, ο συνδυασμός των βιοδεικτών EtG και FAEE στις τρίχες μπορεί να οδηγήσει σε ελάχιστο ποσοστό ψευδώς αρνητικών-θετικών αποτελεσμάτων.

Λέξεις κλειδιά: αιθυλική αλκοόλη, χρόνια χρήση, δείκτες/μεταβολίτες.

ABSTRACT

Long-term ethyl alcohol consumption or alcohol abuse may potentially lead to severe health problems and disorders such as cancer, cardiovascular diseases, brain injury, diabetes, liver diseases. This has led researchers to focus attention to identifying useful biomarkers in models of alcohol abuse to prevent, diagnose and treat developed alcohol abuse. There are sensitive and specific biomarkers that can provide details on the level on alcohol consumption such as CDT, EtG, EtS, PEth and FAEs. Hair EtG was proven the best biomarker for evaluating alcohol abuse. Due to many limitations of false negative-positive results of some traditional biomarkers that may be encountered in patients with cooccurrence of other diseases, the combination of hair EtG and FAEs biomarkers can lead to the minimal rate of false negative-positive results.

Key words: ethyl alcohol, chronic use, markers / metabolites.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
ABSTRACT.....	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 ΧΡΗΣΗ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ -ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	7
1.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ.....	9
1.2.1 Οξειδωτικές οδοί.....	10
1.2.2 Μη οξειδωτικές οδοί.....	12
2. ΚΑΤΑΧΡΗΣΗ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ.....	13
2.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΥΝΟΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΑΧΡΗΣΗ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ.....	13
2.1.1 Δημογραφικοί.....	13
2.1.2 Ψυχοκοινωνικοί.....	14
2.2 ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ.....	15
2.2.1 Καρκίνος.....	17
2.2.2 Διαβήτης.....	19
2.2.3 Νευροψυχιατρικές ασθένειες.....	19
2.2.4 Καρδιαγγειακή νόσος.....	21
2.2.5 Ηπατική νόσος.....	22
2.2.6 Σκόπιμοι και μη σκόπιμοι τραυματισμοί.....	23
3. ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΤΑΧΡΗΣΗΣ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ.....	24
3.1 Ορισμός - Χρήση Βιοδεικτών.....	24
3.2 Κατηγορίες Βιοδεικτών.....	25
4. ΕΜΜΕΣΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ.....	25
4.1 γ-Γλουταμυλική μεταφοράση (γGT).....	25
4.2 Ασπαρτική αμινοτρανσφεράση(ASAT) ή αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALAT).....	28
4.3 Μέσος όγκος ερυθρών (MCV).....	29

4.4 Τρανσφερίνη με έλλειψη υδατανθράκων (CDT).....	31
4.5 5-Υδροξυ-τροπτοφόλη (5-HTOL)	32
4.6 Ολικό σιαλικό οξύ στον ορό	33
4.7 Συσχέτιση των έμμεσων βιοδεικτών.....	34
5. ΑΜΕΣΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ.....	38
5.1 Φωσφατιδυλική-αιθανόλη (PEth).....	38
5.2 Αιθυλο-γλυκουρονίδιο (EtG) και Αιθυλικό-θειικό άλας (EtS) σε ούρα	40
5.3 EtG και αιθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων (FAEEs) σε τρίχες.....	41
5.4 EtG σε τρίχες - Εγκληματολογικές παράμετροι.....	48
6. ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΧΡΟΝΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ/ ΚΑΤΑΧΡΗΣΗΣ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ.....	51
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	53
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	56
ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ.....	60

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Τρισδιάστατη απεικόνιση της αιθυλικής αλκοόλης και ο χημικός της τύπος (Κατή, 2006).	7
Εικόνα 2. Οξειδωτικά στάδια μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης. Τα ένζυμα αλκοολική αφυδρογονάση (ADH), το κυτόχρωμα P450 2E1 (CYP2E1) και η καταλάση συμβάλλουν στον οξειδωτικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης. Η ADH παρούσα στο κυτταρικό υγρό (κυτοσόλη), μετατρέπει την αιθυλική αλκοόλη σε ακεταλδεΐδη. Αυτή η αντίδραση περιλαμβάνει ένα ενδιάμεσο φορέα ηλεκτρονίων, + νικοτινάμιδο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο (NAD), ο οποίος ανάγεται από δύο ηλεκτρόνια για να σχηματίσει NADH. Η καταλάση που βρίσκεται στα κυτταρικά σώματα που ονομάζονται υπεροξυσώματα, απαιτεί υπεροξείδιο του υδρογόνου (H ₂ O ₂) για την οξείδωση της αιθυλικής αλκοόλης. Το CYP2E1, που υπάρχει κυρίως στα μικροσώματα του κυττάρου, αναλαμβάνει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης σε ακεταλδεΐδη σε αυξημένες συγκεντρώσεις αιθυλικής αλκοόλης. Η ακεταλδεΐδη μεταβολίζεται κυρίως από την αλδεϋδική αφυδρογονάση (ALDH2) στα μιτοχόνδρια προς σχηματισμό οξικού άλατος και NADH, ROS ενεργές μορφές οξυγόνου (Zakhari, 2006).	11
Εικόνα 3. Αίτια του σχετικού κινδύνου από την κατανάλωση αλκοόλης σε άνδρες και γυναίκες (White et al., 2002)	15
Εικόνα 4. Σχέση μεταξύ προσλαμβανόμενης ποσότητας αλκοόλης και της εμφάνισης ορισμένων μορφών καρκίνου (Anderson et al., 2005).	18

Εικόνα 5. Σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης υπέρτασης εξαιτίας της πρόσληψης αλκοόλης (Anderson et al., 2005).....	21
Εικόνα 6. Σχετικός κίνδυνος αιμορραγικού εγκεφαλικού επεισοδίου εξαιτίας της πρόσληψης αλκοόλης (Anderson et al., 2005).	21
Εικόνα 7. Σχετικός κίνδυνος ηπατικής κίρρωσης μετά από πρόσληψη αλκοόλης σε ανδρικό και γυναικείο πληθυσμό (Anderson et al., 2005).....	22
Εικόνα 8. Σχηματική αναπαράσταση της ηπατικής κίρρωσης μετά από χρόνια κατανάλωση αλκοόλης (Schmidt, 2004).	23
Εικόνα 9. Οι μέσες κατανομές της δραστηριότητας της γ-γλουταμυλικής τρανσφεράσης (γGT) σε άνδρες (Α) και γυναίκες (Β)ταξινομούνται ανάλογα με την κατανάλωση αιθανόλης και το δείκτη μάζας σώματος (BMI) Παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του φύλου (P<0,0001), το επίπεδο κατανάλωσης (P<0,01) και του BMI (P<0,001) (Puuka et al., 2006).....	27
Εικόνα 10. Τιμές της %CDT σε ασθενείς από την ομάδα Α (χρόνια κατανάλωση αλκοόλης), ομάδα Β (απέχοντες από την αλκοόλη ή περιστασιακοί χρήστες) και ομάδα C (ομάδα ελέγχου) (Maksič et al. 2010).....	35
Εικόνα 11. Τιμές της παραμέτρου α) AST και β) γGT από την ομάδα Α (χρόνια κατανάλωση αλκοόλης), ομάδα Β (απέχοντες από την αλκοόλη ή περιστασιακοί χρήστες) και ομάδα C (ομάδα ελέγχου) (Maksič et al. 2010).	35
Εικόνα 12. Τιμές τις παραμέτρου α) ALT και β) MCV από την ομάδα Α (χρόνια κατανάλωση αλκοόλης), ομάδα Β (απέχοντες από την αλκοόλη ή περιστασιακοί χρήστες) και ομάδα C (ομάδα ελέγχου) (Maksič et al. 2010).	36
Εικόνα 13. Χρωματογράφημα σε μαλλιά με 3 pg / mg EtG(Imbert et al.,2014).....	49

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Σχετικός κίνδυνος σε περιπτώσεις όπου η κατανάλωση αλκοόλης αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου(Anderson et al., 2005).	16
Πίνακας 2. Κίνδυνος ανάπτυξης διαταραχών διάθεσης μετά από ακτανάλωση αλκοόλης (Anderson et al., 2005).....	20
Πίνακας 3. Συσχέτιση των βιοδεικτών (Maksič et al. 2010).	36
Πίνακας 4. Τιμές των βιοδεικτών πριν και μετά την αποχή από την κατανάλωση αλκοόλης (Maksič et al. 2010).....	37
Πίνακας 5. Φυσικές και χημικές ιδιότητες των βιοδεικτών EtG και FAEEs (Oppolzer, 2016).	43

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΧΡΗΣΗ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ -ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Η αιθυλική αλκοόλη (ethyl alcohol) ή αιθανόλη ή καθαρό οινόπνευμα είναι η αλκοόλη που περιέχει 2 άτομα άνθρακα (Εικόνα 1) (Κατή, 2006) και αποτελεί ένα άχρωμο, διαυγές υγρό ταχέως απορροφούμενο από τον γαστρεντερικό σωλήνα και το οποίο κατανέμεται σε ολόκληρο το σώμα. Χρησιμοποιείται ευρέως ως διαλύτης και συντηρητικό στα φαρμακευτικά σκευάσματα καθώς επίσης και ως το κύριο συστατικό των αλκοολούχων ποτών. Πράγματι, η αιθυλική αλκοόλη έχει ευρεία χρήση ως διαλύτης ουσιών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethanol#section=Top>). Η αιθυλική αλκοόλη παράγεται με ζύμωση κατά την οποία διασπώνται τα σάκχαρα και άμυλα των φρούτων και σιτηρών από το ένζυμο ζυμάση που περιέχεται σε αυτά (<https://www.britannica.com/science/ethyl-alcohol>). Η αιθυλική αλκοόλη αποτελεί μία ψυχοδραστική ουσία με ιδιότητες που προκαλούν εξάρτηση μετά την κατανάλωσή της από τον ανθρώπινο οργανισμό (http://www.who.int/substance_abuse/facts/alcohol/en/).



Εικόνα 1. Τρισδιάστατη απεικόνιση της αιθυλικής αλκοόλης και ο χημικός της τύπος (Κατή, 2006).

Η γενικώς αποδεκτή προέλευση της λέξης «alcohol» (αλκοόλ) είναι από το αραβικό «al kuhl» ή «kohol» το οποίο σημαίνει πολύ λεπτή σκόνη. Σταδιακά άρχισε να έχει τη σημασία της «ουσίας». Δεν είναι γνωστό πότε ακριβώς εμφανίστηκε η αιθυλική

αλκοόλη (http://www.itecref.com/pdf/Ethyl_Alcohol_Handbook_Equistar.pdf).

Γεγονός όμως είναι ότι η επίδραση της αιθυλικής αλκοόλης ήταν πανταχού παρούσα στην ανθρώπινη ιστορία. Είναι αναμφισβήτητο ότι αν και δεν ήταν η κυρίαρχη ψυχοδραστική ουσία σε όλες τις ανθρώπινες κουλτούρες, η αιθυλική αλκοόλη διαδραμάτισε ένα πιο σημαντικό και διαδεδομένο ρόλο στην ιστορία της ανθρώπινης σκέψης και οικονομίας από οποιαδήποτε άλλη ουσία. Ο κριτικός ρόλος της στην ανάπτυξη των ευρωπαϊκών και ανατολικών πολιτισμών είναι γνωστή από τη συμβολική θέση του κρασιού στο χριστιανικό μυστήριο, μέχρι τα συμπόσια της Κλασσικής Ελλάδας και την κεντρική θέση της αμπελοκαλλιέργειας στην εξάπλωση του ελληνικού και ρωμαϊκού εμπορίου. (<http://www.history.ac.uk/reviews/review/1452>).

Στον σύγχρονο κόσμο, η κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης έχει γίνει πιο διαδεδομένη και τα μέσα με τα οποία μπορεί να καταναλωθεί έχουν διαφοροποιηθεί (πιο κριτικά με την ανάπτυξη από το 18ο αιώνα της απόστασης βιομηχανικής κλίμακας). Η αιθυλική αλκοόλη ήταν ένας από τους τρεις πιο μεγάλους «ψυχοδραστικούς πόρους» μαζί με τον καπνό και την καφεΐνη, ο οποίος συνέβαλλε στην παγκοσμιοποίηση του εμπορίου από τον 17ο αιώνα και στο εξής. Η κατανάλωση της αιθυλικής αλκοόλης είναι μία όλο και περισσότερο παγκοσμιοποιημένη πολιτιστική πρακτική με την αιθυλική αλκοόλη να αποτελεί ουσία με παγκόσμια ιστορία (<http://www.history.ac.uk/reviews/review/1452>). Μέχρι το 19ο αιώνα, οι ηγέτες της βιομηχανίας θεωρούσαν την αιθυλική αλκοόλη ως σημαντικό εμπόδιο στο χώρο της βιομηχανίας όπου υπήρχε η απαίτηση για νηφάλιο και προσεκτικό εργατικό δυναμικό. Τελικά, και με μεγάλη δυσκολία, οι βιομηχανικές κοινωνίες στην Ευρώπη και αλλού άρχισαν να θεωρούν το φαινόμενο της χρήσης αιθυλικής αλκοόλης ως ένα σημαντικό κοινωνικό και υγειονομικό πρόβλημα (WHO, 2014).

Η κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης αποτελεί κομμάτι της καθημερινότητας των δυτικών κοινωνιών και σε πολλές περιπτώσεις γίνεται καταχρηστική σε ενήλικα και ανήλικα άτομα με δυσμενείς συνέπειες για τα ίδια και το περιβάλλον (Κατή, 2006).

1.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ

Οι επιδράσεις της αιθυλικής αλκοόλης σε διάφορους ιστούς εξαρτώνται από τη συγκέντρωσή της στο αίμα (blood alcohol concentration, BAC) με το χρόνο. Η BAC καθορίζεται από το πόσο γρήγορα απορροφάται, διανέμεται, μεταβολίζεται και αποβάλλεται. Έπειτα από την κατάποση, η αιθυλική αλκοόλη απορροφάται κυρίως από το λεπτό έντερο στις φλέβες οι οποίες συλλέγουν αίμα από το στομάχι και τα έντερα και από την πυλαία φλέβα η οποία οδηγεί στο ήπαρ. Από εκεί μεταφέρεται στο ήπαρ, όπου μεταβολίζεται παρουσία ενζύμων. Ο ρυθμός αύξησης της BAC επηρεάζεται από πόσο γρήγορα επιτυγχάνεται εκκένωση της αιθυλικής αλκοόλης από το στομάχι και την έκταση του μεταβολισμού κατά τη διάρκεια της πρώτης διέλευσης μέσω του στομάχου και του ήπατος (μεταβολισμός πρώτης διέλευσης FPM). Περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως ο ρυθμός κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης, η παρουσία τροφίμων στο στομάχι και ο τύπος του αλκοολούχου ποτού καθώς και οι γενετικοί παράγοντες όπως οι μεταβολές στα κύρια ένζυμα αλκοολική αφυδρογονάση ADH και αλεϋδική αφυδρογονάση ALDH2 επιδρούν στη BAC (Zakhari, 2006).

Ο ρυθμός απέκκρισης της αιθυλικής αλκοόλης ποικίλλει ευρέως (έως και τριπλάσια) μεταξύ των ατόμων και επηρεάζεται από παράγοντες όπως η χρόνια κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης, η διατροφή, η ηλικία, το κάπνισμα και η ώρα της ημέρας. Οι επακόλουθες επιβλαβείς επιδράσεις που προκαλούνται από ισοδύναμες ποσότητες αλκοόλης επίσης διαφέρουν μεταξύ των ατόμων. Ακόμη και έπειτα από μέτρια κατανάλωση αλκοόλης, η BAC μπορεί να είναι σημαντική (0,046 έως 0,092 g%) στην περιοχή των 10-20 mM (Zakhari, 2006). Η αιθυλική αλκοόλη διαχέεται εύκολα διαμέσου των μεμβρανών και κατανέμεται μέσω όλων των κυττάρων και ιστών, και σε αυτές τις συγκεντρώσεις μπορεί να επιδράσει έντονα στην κυτταρική λειτουργία αλληλεπιδρώντας με ορισμένες πρωτεΐνες και κυτταρικές μεμβράνες. Ο μεταβολισμός της αλκοόλης, όπως εξηγείται στη συνέχεια, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ακεταλδεΐδης, η οποία είναι άκρως δραστικό και τοξικό παραπροϊόν το οποίο μπορεί να συμβάλλει σε ιστική βλάβη, στο σχηματισμό βλαβερών μορίων γνωστών ως ενεργές μορφές μορίων (ROS) και στην οξειδοαναγωγή (redox) των ηπατικών κυττάρων (Καραπατάνης & Παπαστεργίου, 2012).

Η χρόνια κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης και ο μεταβολισμός της συνδέονται στενά με πολλές παθολογικές συνέπειες και βλάβες ιστών. Η κατανόηση της ισορροπίας της απομάκρυνσης της αλκοόλης και της συσσώρευσης δυνητικά επιβλαβών μεταβολικών παραπροϊόντων, καθώς και ο τρόπος με τον οποίο ο μεταβολισμός της αλκοόλης επιδρά σε άλλες μεταβολικές οδούς, είναι απαραίτητα για την εκτίμηση τόσο των βραχυπρόθεσμων όσο και των μακροπρόθεσμων επιπτώσεων της αντίδρασης του οργανισμού στην πρόσληψη της αλκοόλης (Zakhari, 2006).

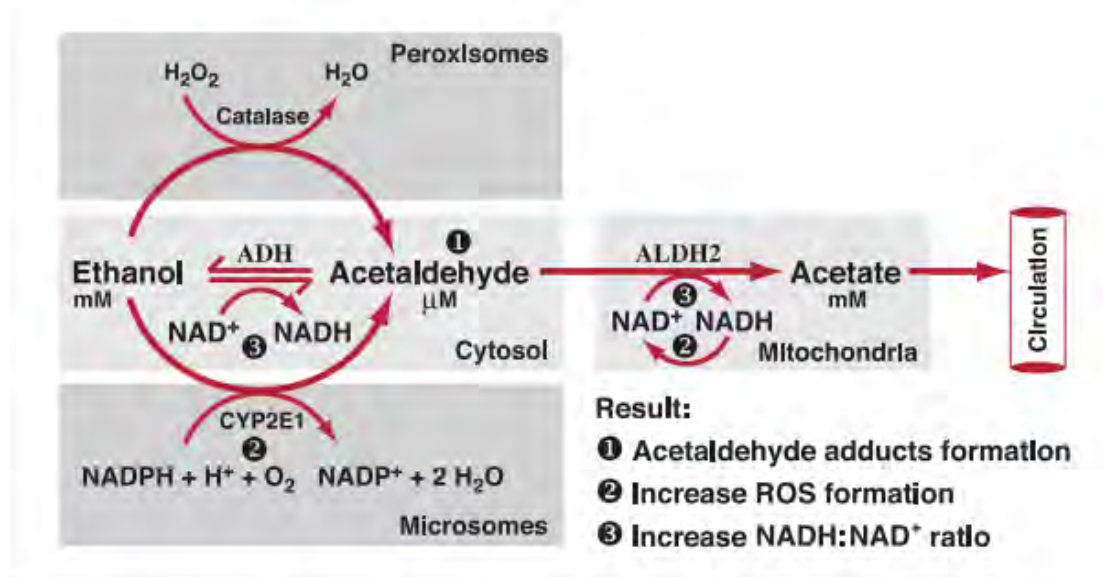
Αν και το ήπαρ είναι το κύριο όργανο που είναι υπεύθυνο για το μεταβολισμό της καταναλωθείσας αλκοόλης, μελέτες αναφέρουν ότι το στομάχι συμβάλλει στην FPM. Το ανθρώπινο ισοένζυμο ADH3, το οποίο βρίσκεται στο ήπαρ και στο στομάχι, μεταβολίζει μόνο μερικώς την αλκοόλη σε φυσιολογικές BACs (0,23 g% BAC ή <50 mM) στο ήπαρ αλλά μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στο μεταβολισμό στο στομάχι, διότι οι γαστρικές συγκεντρώσεις σε αλκοόλη μπορεί να φτάσουν με γραμμωριακή κλίμακα κατά την κατανάλωση αλκοόλης (Baraona et al., 2001, Lee et al., 2003).

Η αιθυλική αλκοόλη μεταβολίζεται επίσης σε εξωηπατικούς ιστούς που δεν περιέχουν ADH, όπως ο εγκέφαλος, από τα ένζυμα κυτόχρωμα P450 και καταλάση. Γενικά ο μεταβολισμός της αιθυλικής αλκοόλης επιτυγχάνεται και με τις δύο οξειδωτικές οδούς, οι οποίες είτε κάνουν προσθήκη οξυγόνου ή αφαίρεση υδρογόνου, και με μη οξειδωτικές οδούς (Zakhari, 2006).

1.2.1 Οξειδωτικές οδοί

Όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 2, η ADH, το P450 2E1 (CYP2E1), και η καταλάση συμβάλλουν στον οξειδωτικό μεταβολισμό της αλκοόλης.

Η κύρια οδός του οξειδωτικού μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης στο ήπαρ περιλαμβάνει την ADH, ένα ένζυμο με πολλές διαφορετικές ποικιλίες (ισοένζυμα). Ο μεταβολισμός της αλκοόλης με ADH παράγει ακεταλδεΐδη, η οποία είναι εξαιρετικά τοξική και μπορεί να συμβάλλει ενδεχομένως στον εθισμό (Zakhari, 2006).



Εικόνα 2. Οξειδωτικά στάδια μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης. Τα ένζυμα αλκοολική αφυδρογονάση (ADH), το κυτόχρωμα P450 2E1 (CYP2E1) και η καταλάση συμβάλλουν στον οξειδωτικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης. Η ADH παρούσα στο κυτταρικό υγρό (κυτοσόλη), μετατρέπει την αιθυλική αλκοόλη σε ακεταλδεΐδη. Αυτή η αντίδραση περιλαμβάνει ένα ενδιάμεσο φορέα ηλεκτρονίων, + νικοτινάμιδο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο (NAD), ο οποίος ανάγεται από δύο ηλεκτρόνια για να σχηματίσει NADH. Η καταλάση που βρίσκεται στα κυτταρικά σώματα που ονομάζονται υπεροξυσώματα, απαιτεί υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂) για την οξείδωση της αιθυλικής αλκοόλης. Το CYP2E1, που υπάρχει κυρίως στα μικροσώματα του κυττάρου, αναλαμβάνει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης σε ακεταλδεΐδη σε αυξημένες συγκεντρώσεις αιθυλικής αλκοόλης. Η ακεταλδεΐδη μεταβολίζεται κυρίως από την αλδεΐδική αφυδρογονάση (ALDH2) στα μιτοχόνδρια προς σχηματισμό οξικού άλατος και NADH, ROS ενεργές μορφές οξυγόνου (Zakhari, 2006).

Η ADH αποτελεί μία πολύπλοκη οικογένεια ενζύμων και έχει γίνει ταξινόμηση των πέντε από αυτές βάσει των κινητικών και δομικών ιδιοτήτων τους. Σε υψηλές συγκεντρώσεις, η αλκοόλη απεκκρίνεται με υψηλό ρυθμό λόγω της παρουσίας ενζυμικών συστημάτων με επίπεδα υψηλής δραστηριότητας, όπως το β3-ADH και CYP2E1. Αυτή η διαδικασία οξείδωσης περιλαμβάνει έναν ενδιάμεσο φορέα ηλεκτρονίων, το νικοτινάμιδο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο (NAD⁺), το οποίο ανάγεται από δύο ηλεκτρόνια προς σχηματισμό NADH. Ως αποτέλεσμα, η οξείδωση αλκοόλης παράγει ένα ανηγμένο κυτοσολικό περιβάλλον στα ηπατικά κύτταρα. Με άλλα λόγια αυτές οι αντιδράσεις αφήνουν τα ηπατικά κύτταρα σε κατάσταση ιδιαίτερα ευάλωτη σε βλάβες από τα παραπροϊόντα μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης όπως είναι οι ελεύθερες είξεις και η ακεταλδεΐδη (Zakhari, 2006).

Το CYP2E1 επάγεται από τη χρόνια κατανάλωση αλκοόλης και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της σε ακεταλδεΐδη σε αυξημένες συγκεντρώσεις αιθυλικής αλκοόλης ($K_m=8$ έως 10mM , σε σύγκριση με $0,2$ έως $2,0$ mM για την ηπατική ADH). Επιπλέον, η οξείδωση της αλκοόλης που εξαρτάται από το CYP2E1 μπορεί να εμφανιστεί σε άλλους ιστούς όπως στον εγκέφαλο, όπου η δραστηριότητα της ADH είναι χαμηλή. Παράγει επίσης ROS, συμπεριλαμβανομένου του υδροξυαιθυλίου, ανιόντος υπεροξειδίου και ριζών υδροξυλίου, που αυξάνουν τον κίνδυνο βλάβης των ιστών (Zakhari, 2006).

Η καταλάση, είναι ένζυμο που εντοπίζεται σε κυτταρικά σώματα που ονομάζονται υπεροξυσώματα, το οποίο είναι ικανό να οξειδώνει την αιθυλική αλκοόλη *in vitro* παρουσία ενός συστήματος που παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου, όπως το σύμπλοκο ενζύμου NADPH οξειδάση (Zakhari, 2006).

1.2.2 Μη οξειδωτικές οδοί

Ο μη οξειδωτικός μεταβολισμός της αιθυλικής αλκοόλης είναι περιορισμένος, αλλά τα προϊόντα του μπορεί να έχουν παθολογική και διαγνωστική σημασία. Η αλκοόλη μεταβολίζεται μη οξειδωτικά μέσω δύο οδών. Ο πρώτος οδηγεί στο σχηματισμό μορίων που ονομάζονται αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAEEs) από την αντίδραση αλκοόλης με τα λιπαρά οξέα-ασθενή οργανικά οξέα που παίζουν λειτουργικό ρόλο στα ανθρώπινα κύτταρα. Η άλλη μη οξειδωτική οδός καταλήγει στο σχηματισμό ενός τύπου μορίου λίπους (λιπιδίου) που περιέχει φώσφορο (φωσφολιπίδιο) γνωστό ως φωσφατιδυλ αιθανόλη. Οι FAEE είναι ανιχνεύσιμοι στον ορό και στους ιστούς μετά την κατάποση της αλκοόλης και μένουν πολύ μετά την απέκκριση της αλκοόλης (Zakhari, 2006).

Η δεύτερη μη οξειδωτική οδός απαιτεί το ένζυμο φωσφολιπάση D (PLD), το οποίο διασπά τα φωσφολιπίδια για την παραγωγή φωσφατιδικού οξέος (PA). Η PLD έχει υψηλή τιμή K_m για την αιθυλική αλκοόλη και η ενζυμική αντίδραση εμφανίζεται κυρίως σε υψηλές συγκεντρώσεις αλκοόλης. Το προϊόν της αντίδρασης μεταβολίζεται ελάχιστα και μπορεί να συσσωρευτεί σε ανιχνεύσιμα επίπεδα μετά από χρόνια κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων αιθυλικής αλκοόλης αλλά τα αποτελέσματά της επί του κυττάρου δεν έχουν καθοριστεί ακόμη. Ωστόσο, ο σχηματισμός της φωσφατιδυλ-

αιθανόλης γίνεται εις βάρος της παραγωγής PA, με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση του σχηματισμού PA και τη διάσπαση της κυτταρικής σηματοδότησης (Zakhari, 2006).

2. ΚΑΤΑΧΡΗΣΗ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ

2.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΥΝΟΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΑΧΡΗΣΗ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ

2.1.1 Δημογραφικοί

Η κατανάλωση αλκοόλης σε νεαρή ηλικία αυξάνει τον κίνδυνο εξάρτησης. Έχει αναφερθεί ότι ο κίνδυνος κατάχρησης ουσιών αυξάνεται σχεδόν κατά 500% μεταξύ 12 και 15 ετών. Για την κατανάλωση αλκοόλης, η μέση ηλικία έναρξης είναι 12, 5 έτη και το 93% των εφήβων που καταναλώνουν αλκοόλη αρχίζουν να πίνουν από την ηλικία των 15 ετών (Hassan, 2013).

Ο κίνδυνος εξάρτησης από την χρήση αλκοόλης είναι 4 φορές μεγαλύτερος μεταξύ των ατόμων που αρχίζουν να καταναλώνουν κάτω από την ηλικία των 15 ετών. Η εξάρτηση από την αλκοόλη μπορεί να αναπτυχθεί σε οποιαδήποτε ηλικία αλλά η επανειλημμένη κατάχρηση αλκοόλης σε νεαρή ηλικία αυξάνει τον κίνδυνο διαταραχής κατανάλωσης αλκοόλης (Schuckit, 2000).

Μεταξύ των ενηλίκων, η κατάχρηση αλκοόλης είναι σχεδόν τριπλάσια στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες και επίσης συχνότερη μεταξύ των ανδρών στο σχολείο σε σχέση με τις γυναίκες. Οι άνδρες με ADHD ή διαταραχές συμπεριφοράς έχουν περισσότερες πιθανότητες να καταναλώσουν μεγαλύτερες ποσότητες αλκοόλης σε σχέση με τους άνδρες χωρίς αυτές τις διαταραχές, ενώ οι γυναίκες που παρουσιάζουν κατάθλιψη είναι περισσότερο πιθανό να ξεκινήσουν την κατανάλωση αλκοόλης στην εφηβική ηλικία σε σχέση με τις γυναίκες που δεν αντιμετωπίζουν αυτές τις καταστάσεις (Frone et al., 2003).

2.1.2 Ψυχοκοινωνικοί

Το οικογενειακό ιστορικό αποτελεί σημαντικό παράγοντα εμφάνισης κατάχρησης αλκοόλης στον πληθυσμό. Σε έρευνα αναφέρεται ότι τα παιδιά των γονέων που κατανάλωναν υπερβολική ποσότητα αλκοόλης για μεγάλο χρονικό διάστημα ήταν σε μεγαλύτερο κίνδυνο για εμφάνιση καταθλιπτικών επεισοδίων, χαμηλής αυτοεκτίμησης και χρόνιας χρήσης αλκοόλης σε σχέση με τους συμμαθητές τους στο σχολείο. Οι γονεϊκές πρακτικές, ιδίως η υποστήριξη και ο έλεγχος συνδέονται με την ανάπτυξη της κατανάλωσης στους εφήβους, της εγκληματικότητας και άλλων προβληματικών συμπεριφορών. Η μελέτη επιβεβαίωσε ότι η γονική υποστήριξη και η παρακολούθηση είναι σημαντικοί παράγοντες πρόβλεψης της εφηβικής συμπεριφοράς ακόμη και αν ληφθούν υπόψη δημογραφικοί/οικογενειακοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των κοινωνικοοικονομικών δεικτών, του φύλου, την οικογενειακή δομή και το ιστορικό χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης (Hassan, 2013).

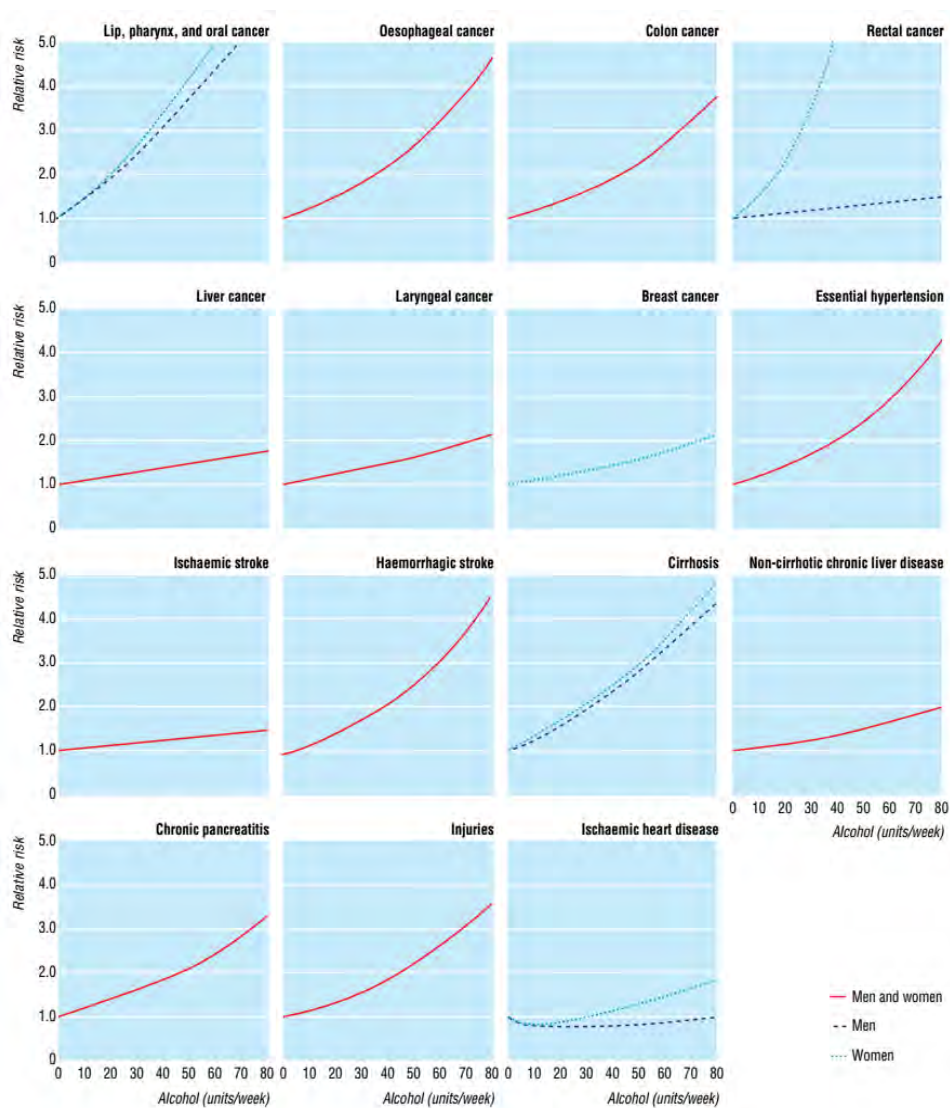
Έχει αποδειχθεί η ισχυρή σχέση μεταξύ της κατάχρησης αλκοόλης από τους νέους και της μείωσης των οικογενειακών αξιών. Στη σημερινή εποχή η κατάχρηση αλκοόλης μπορεί να γίνεται αποδεκτή σε κάποιες περιπτώσεις από τους γονείς οι οποίοι δεν προβάλλουν περιορισμούς στην κατανάλωσή της και την επιτρέπουν ελεύθερα στα παιδιά (Hassan, 2013).

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας κινδύνου είναι η ψυχολογική πίεση που δέχονται τα νεαρά άτομα που σχετίζεται με την επίτευξη ακαδημαϊκών επιτυχιών με αποτέλεσμα οι σπουδαστές να οδηγούνται στην κατάχρηση αλκοόλης με σκοπό να διατηρούν το νευρικό τους σύστημα σε διέγερση και να αποδώσουν στα καθήκοντά τους κατά τη δική τους θεώρηση (Hassan, 2013).

Ακόμη ένας σημαντικός παράγοντας που μπορεί να ευνοήσει τη χρόνια κατανάλωση αλκοόλης είναι η αναζήτηση της αποδοχής μιας συγκεκριμένης ομάδας ατόμων από τον περίγυρό τους, ο οποίος ασκεί πίεση για τη συμμετοχή στην κατανάλωση αλκοόλης (Hassan, 2013).

2.2 ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Ο σχετικός κίνδυνος για την υγεία, με προβλήματα και παθήσεις σε συγκεκριμένα όργανα του ανθρώπινου σώματος, με τη χρόνια κατανάλωση αλκοόλης παρουσιάζεται στην Εικόνα 3 καθώς και στον Πίνακα 1.



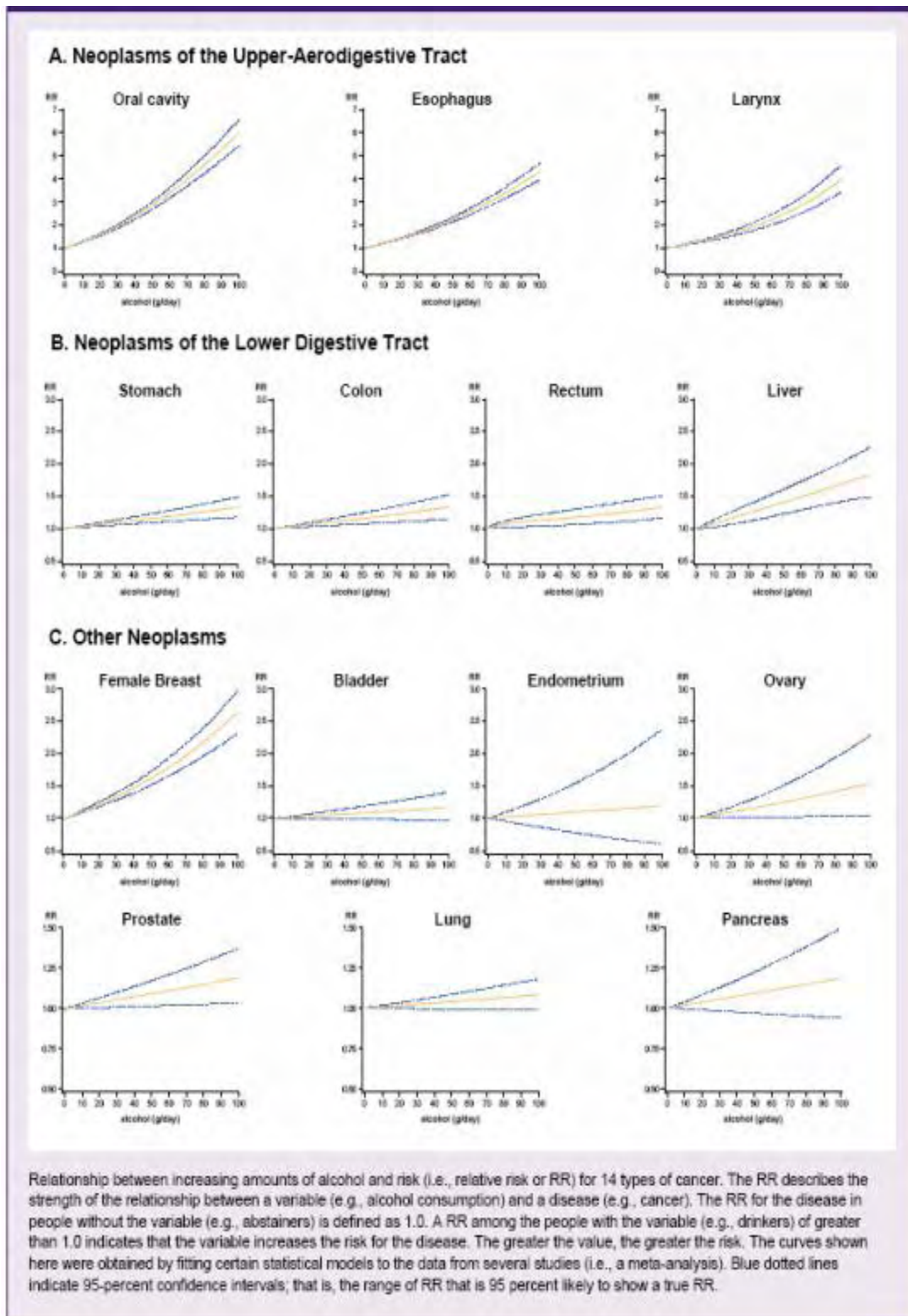
Εικόνα 3. Αίτια του σχετικού κινδύνου από την κατανάλωση αλκοόλης σε άνδρες και γυναίκες (White et al., 2002).

Πίνακας 1. Σχετικός κίνδυνος σε περιπτώσεις όπου η κατανάλωση αλκοόλης αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου (Anderson et al., 2005).

	Γυναίκες			Άνδρες		
	Κατανάλωση αλκοόλ, g/ημέρα					
	0 -19	20-39	40+	0-39	40-59	60+
Νευροψυχιατρικές καταστάσεις						
Επιληψία	1.3	7.2	7.5	1.2	7.5	6.8
Γαστρεντερικές καταστάσεις						
Κίρρωση ήπατος	1.3	9.5	13.0	1.3	9.1	13.0
Κιρσοί του οισοφάγου	1.3	9.5	9.5	1.3	9.5	9.5
Οξεία και χρόνια παγκρεατίτιδα	1.3	1.8	1.8	1.3	1.8	3.2
Μεταβολικές και ενδοκρινικές καταστάσεις						
Σακχαρώδης διαβήτης	0.9	0.9	1.1	1.0	0.6	0.7
Κακοήθη νεοπλάσματα						
Καρκίνοι στόματος και στοματοφάρυγγα	1.5	2.0	5.4	1.5	1.9	5.4
Καρκίνος οισοφάγου	1.8	2.4	4.4	1.8	2.4	4.4
Καρκίνος λάρυγγα	1.8	3.9	4.9	1.8	3.9	4.9
Καρκίνος ήπατος	1.5	3.0	3.6	1.5	3.0	3.6
Καρκίνος μαστού	1.1	1.4	1.6			
Άλλα νεοπλάσματα	1.1	1.3	1.7	1.1	1.3	1.7
Καρδιαγγειακές παθήσεις						
Υπέρταση	1.4	2.0	2.0	1.4	2.0	4.1
Στεφανιαία νόσος	0.8	0.8	1.1	0.8	0.8	1.0
Ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο	0.5	0.6	1.1	0.9	1.3	1.7
Αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο	0.6	0.7	8.0	1.3	2.2	2.4
Καρδιακές αρρυθμίες	1.5	2.2	2.2	1.5	2.2	2.2
Καταστάσεις που προκύπτουν κατά την περιγεννητική περίοδο						
Αυτόματη αποβολή	1.2	1.8	1.8	1.0	1.4	1.4
Γέννηση ελλειποβαρής ¹	1.0	1.4	1.4	0.9	1.4	1.4
Προωρότητα ¹	0.9	1.4	1.4	1.0	1.7	1.7
Καθυστερημένη ενδομήτρια ανάπτυξη ¹	1.0	1.7	1.7			

2.2.1 Καρκίνος

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλης είναι παράγοντας ευνοϊκός για την ανάπτυξη πολλών μορφών καρκίνου στη στοματική κοιλότητα, στον φάρυγγα, στον οισοφάγο και στο στομάχι καθώς και στο παχύ έντερο σε γραμμική σχέση (Εικόνα 4). Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου αυξάνεται από 14 στους 100.000 άνδρες που δεν καταναλώνουν αλκοόλη, σε 50 στους 100.000 άνδρες οι οποίοι καταναλώνουν περισσότερα από 4 ποτά (40g) ημερησίως (Anderson et al., 2005).



Εικόνα 4. Σχέση μεταξύ προσλαμβανόμενης ποσότητας αλκοόλης και της εμφάνισης ορισμένων μορφών καρκίνου (Anderson et al., 2005).

Σύμφωνα με ερευνητικά δεδομένα, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες αυξάνεται με την κατανάλωση ποσότητας αλκοόλης. Σε γυναίκες άνω των 80 ετών ο κίνδυνος αυξάνεται από τις 88 στις 133 γυναίκες ανά 1000 στην περίπτωση που καταναλώνουν περισσότερα από 6 ποτά σε ημερήσια βάση (Anderson et al., 2005).

2.2.2 Διαβήτης

Η σχέση μεταξύ κατανάλωση αλκοόλης και εμφάνισης διαβήτη είναι πολύπλοκη. Υπάρχει μία μη γραμμική σχέση μεταξύ του μέσου όγκου κατανάλωσης αλκοόλης και της εμφάνισης διαβήτη, δηλαδή η χαμηλή κατανάλωση αλκοόλης έχει προστατευτικό αποτέλεσμα (κατανάλωση 28g καθαρής αλκοόλης) ενώ η κατάχρηση (από 50-60g καθαρής αλκοόλης ημερησίως) συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο (Rehm, 2011).

2.2.3 Νευροψυχιατρικές ασθένειες

Τα ευρήματα πολλών μελετών υποδεικνύουν ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης ψυχιατρικών νόσων σε άτομα με χρόνια κατανάλωση αλκοόλης. Τα άτομα που είναι εξαρτημένα από τη χρήση αλκοόλης παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης κατάθλιψης κατά 2-3 φορές περισσότερο και έχει αποδειχθεί ότι το 11% των ατόμων αυτών εμφανίζει έντονα σημάδια κατάθλιψης (Πίνακας 2) (Anderson et al., 2005).

Πίνακας 2. Κίνδυνος ανάπτυξης διαταραχών διάθεσης μετά από κατανάλωση αλκοόλης (Anderson et al., 2005).

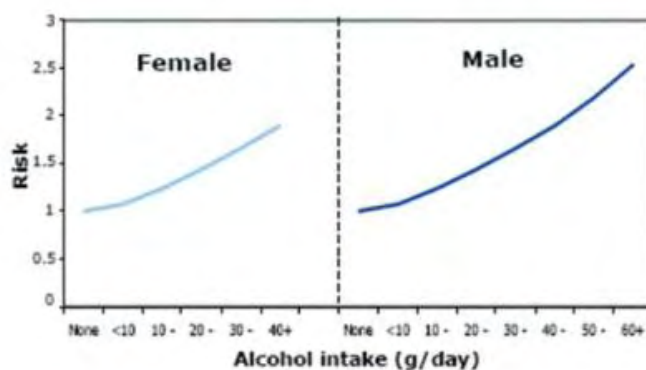
Επιπολασμός ψυχιατρικών διαταραχών σε άτομα με διαταραχές εξάρτησης και κατάχρησης από το αλκοόλ				
Συννοσηρότητα	Κατάχρηση αλκοόλ		Εξάρτηση από το αλκοόλ	
	1-έτους ποσοστό (%)	Odds ratio	1-έτους ποσοστό (%)	Odds ratio
National Comorbidity Survey¹				
Διαταραχές διάθεσης	12.3	1.1	29.2	3.6*
Μείζον καταθλιπτική δχη	11.3	1.1	27.9	3.9*
Διπολική δχη	0.3	0.7	1.9	6.3*
Δχες άγχους	29.1	1.7	36.9	2.6*
ΓΑΔ	1.4	0.4	11.6	4.6*
Δχη πανικού	1.3	0.5	3.9	1.7*
PTSD	5.6	1.5	7.7	2.2*
Epidemiologic Catchment Area² study	Lifetime rate (%)	Odds ratio	Lifetime rate (%)	Odds ratio
Σχιζοφρένεια	9.7	1.9	24	3.8

Σημειώσεις: *Odds ratio ήταν διαφορετικές σε επίπεδο 1 προς 0.05. Οι odds ratio αντιπροσωπεύουν την αυξημένη πιθανότητα κάποιος με δχη εξάρτησης ή κατάχρησης αλκοόλ να παρουσιάσει συννοσηρότητα με μία ψυχιατρική διαταραχή (π.χ., ένα άτομο με εξάρτηση από το αλκοόλ είναι 3.6 φορές πιθανότερο να παρουσιάσει επίσης μία δχη της διάθεσης σε σύγκριση με κάποιο άτομο μη πάσχων από διαταραχή εξάρτησης από αλκοόλ). Το 1-έτους ποσοστό μίας δχης αντικατοπτρίζει το ποσοστό ατόμων που πληρούν τα κριτήρια της διαταραχής κατά τη διάρκεια του προηγούμενου της μελέτης έτους. Το lifetime rate αντιπροσωπεύει το ποσοστό των ατόμων που πληρούν τα κριτήρια για μία δχη καθόλη τη διάρκεια της ζωής τους.
 Πηγή:¹ Kessler et al. 1996.
² Regier et al. 1990.

Μετά απο περίοδο χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης αυξάνεται ο κίνδυνος εμφάνισης βλαβών στο κεντρικό νευρικό σύστημα καθώς και καταστροφικές βλάβες στον εγκέφαλο. Άτομα που προσλαμβάνουν 70-84g αλκοόλης ημερησίως για μεγάλο χρονικό διάστημα παρουσιάζουν γνωστικές ανεπάρκειες ενώ η πρόσληψη 140g και άνω έχει ως αποτέλεσμα μέτρια γνωστικά ελλείμματα (Anderson et al., 2005).

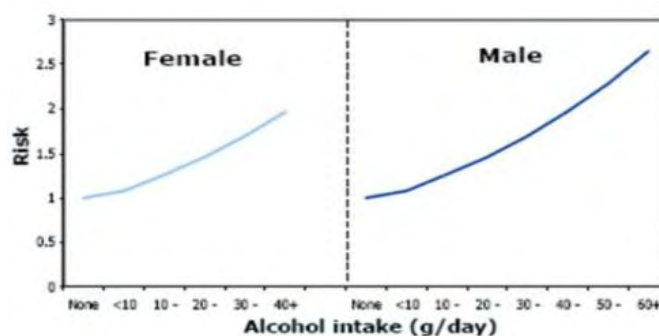
2.2.4 Καρδιαγγειακή νόσος

Η κατανάλωση αλκοόλης οδηγεί σε αύξηση της αρτηριακής πίεσης και του κινδύνου υπέρτασης ανάλογα με τη λαμβανόμενη δόση (Εικόνα 5) (Anderson et al., 2005).



Εικόνα 5. Σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης υπέρτασης εξαιτίας της πρόσληψης αλκοόλης (Anderson et al., 2005).

Η κατανάλωση αλκοόλης αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (ισχαιμικού και αιμορραγικού) με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης του αιμορραγικού επεισοδίου ανάλογα με την προσλαμβανόμενη δόση. Η βαριά πρόσληψη αλκοόλης αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης των εγκεφαλικών επεισοδίων ακόμα και σε εφήβους και νεαρά άτομα (Εικόνα 6) (Anderson et al., 2005).



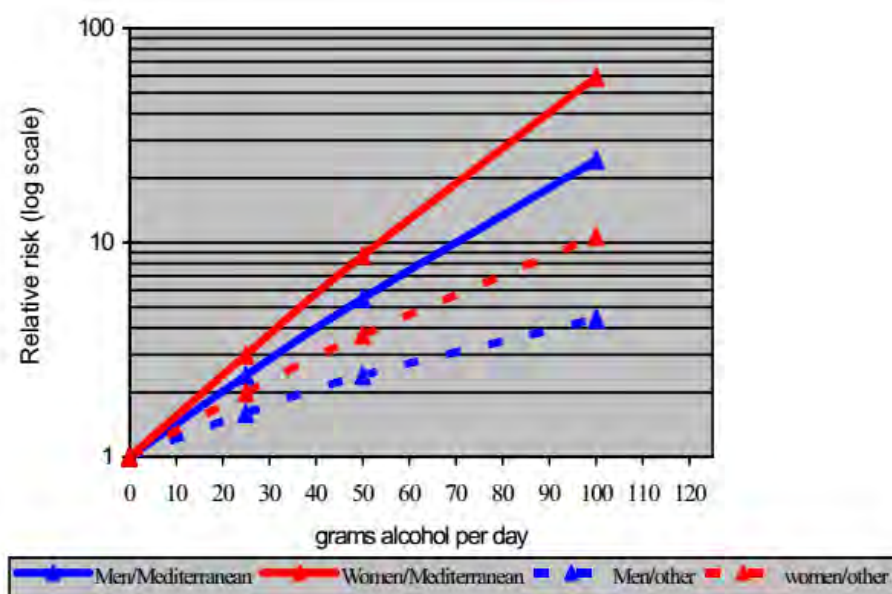
Εικόνα 6. Σχετικός κίνδυνος αιμορραγικού εγκεφαλικού επεισοδίου εξαιτίας της πρόσληψης αλκοόλης (Anderson et al., 2005).

Επιπρόσθετα, η κατάχρηση αλκοόλης οδηγεί σε αύξηση του κινδύνου καρδιακών αρρυθμιών και άλλων καρδιακών προβλημάτων ακόμα και σε άτομα τα οποία δεν είχαν εμφανίσει κανενός είδους πρόβλημα στο παρελθόν (Anderson et al., 2005).

2.2.5 Ηπατική νόσος

Η χρόνια χρήση αλκοόλης αυξάνει τον κίνδυνο ηπατικής βλάβης που μπορεί να οδηγήσει σε ηπατική κίρρωση (Εικόνα 7) (Anderson et al., 2005).

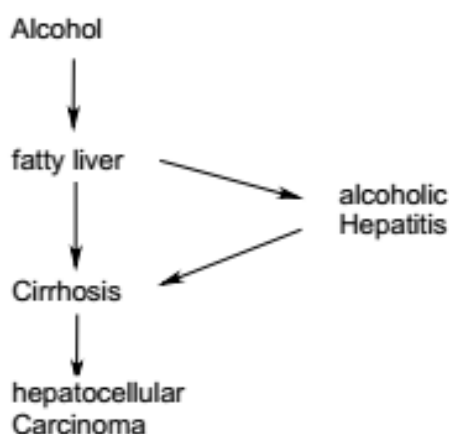
Για τους άνδρες οι οποίοι πεθαίνουν μεταξύ 35 και 69 ετών, ο κίνδυνος εμφάνισης ηπατικής κίρρωσης αυξάνεται από τους 5 στους 1000 άνδρες με την πρόσληψη περισσότερων από 4 ποτά σε ημερήσια βάση (Anderson et al., 2005).



Εικόνα 7. Σχετικός κίνδυνος ηπατικής κίρρωσης μετά από πρόσληψη αλκοόλης σε ανδρικό και γυναικείο πληθυσμό (Anderson et al., 2005).

Μετά την κατανάλωση μέτριας ποσότητας αλκοόλης συσσωρεύονται στο ήπαρ τριγλυκερίδια λόγω της διαταραγμένης ισορροπίας του NAD/NADH₂. Ένα τέτοιο λιπώδες ήπαρ με την επίδραση της αλκοόλης προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση με ανάπτυξη στεατοηπατίτιδας. Η συνεχής διέγερση των μυϊνοβλαστών θα οδηγήσει

στην εναπόθεση ινώδους ιστού με τελική δημιουργία κίρρωσης του ήπατος (Εικόνα 8) (Schmidt, 2004).



Εικόνα 8. Σχηματική αναπαράσταση της ηπατικής κίρρωσης μετά από χρόνια κατανάλωση αλκοόλης (Schmidt, 2004).

2.2.6 Σκόπιμοι και μη σκόπιμοι τραυματισμοί

Έρευνες έχουν δείξει τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλης και της πρόκλησης ακούσιων τραυματισμών. Αυτό εξαρτάται από τη συγκέντρωση της αλκοόλης στο αίμα (BAC) και δείχνει εκθετική σχέση απόκρισης-δόσης. Η κατανάλωση αλκοόλης επηρεάζει τις ψυχοκινητικές ικανότητες, με δόση κατωφλίου για αρνητικές επιδράσεις που βρίσκονται στις BACs περίπου 0,04 έως 0,05%. Κατά συνέπεια η βλάβη που προκαλείται από τη διαταραχή της ψυχοκινητικής λειτουργίας εξαιτίας της κατανάλωσης αλκοόλης μπορεί να προκληθεί σε άτομα με αυτά τα επίπεδα BAC. Οι οξείες επιδράσεις της κατανάλωσης αλκοόλης στον κίνδυνο τραυματισμού εξαρτώνται από τη συχνότητα της κατανάλωσης αλκοόλης από τα άτομα. Τα άτομα που καταναλώνουν με μικρότερη συχνότητα είναι πιο πιθανό να τραυματιστούν ή να τραυματίσουν άλλα άτομα για δεδομένο BAC σε σύγκριση με τα άτομα που καταναλώνουν με μέτρο εξαιτίας της μικρότερης ανοχής που έχουν (Rehm, 2011).

Η κατανάλωση αλκοόλης συνδέεται όχι μόνο με ακούσια αλλά και με σκόπιμη βλάβη. Τόσο ο μέσος όγκος κατανάλωσης αλκοόλης όσο και το επίπεδο κατανάλωσης πριν την εκδήλωση του περιστατικού έχει αποδειχθεί ότι έχουν επίδραση στον κίνδυνο αυτοκτονίας. Υπάρχει επίσης σαφής σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλης και της επιθετικότητας συμπεριλαμβανομένων και των δολοφονιών. Έχουν εντοπιστεί αρκετές οδοί οι οποίες διαδραματίζουν ρόλο σε αυτή τη σχέση, συμπεριλαμβανομένων των βιολογικών οδών που ενεργούν μέσω της αλκοολικής επίδρασης στους νευροδιαβιβαστές ή μέσω των αλκοολικών επιδράσεων στη γνωστική λειτουργία (Rehm, 2011).

3. ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΤΑΧΡΗΣΗΣ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ

3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ - ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ

Η συζήτηση σχετικά με τη διαγνωστική ικανότητα των βιοδεικτών στην κατάχρηση της αιθυλικής αλκοόλης ξεκινά με τον ορισμό του τι είναι βιοδείκτης και τις πιθανές χρήσεις του. Ο ορισμός που δόθηκε από το NIH Biomarkers Definitions Working Group για το βιοδείκτη ως «ένα χαρακτηριστικό που μετράται αντικειμενικά και αξιολογείται ως μία ένδειξη φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθογόνων διεργασιών ή φαρμακολογικών αποκρίσεων σε μία θεραπευτική παρέμβαση» (Achur et al., 2010).

Οι τύποι βιομορίων που θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως οι καλύτεροι βιοδείκτες προτύπου κατανάλωσης αλκοόλης και επακόλουθης βλάβης που προκαλείται από την αλκοόλη δεν είναι γνωστοί. Θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν μακρομόρια όπως νουκλεϊνικά οξέα, πρωτεΐνες ή σύμπλοκα πρωτεϊνών ως δυνητικοί βιοδείκτες. Εναλλακτικά, μικρές βιοχημικές ή μοριακές εξετάσεις θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως πιθανοί βιοδείκτες. Από αυτή την άποψη, πολυάριθμες μελέτες έχουν εστιάσει την προσοχή τους σε βιοδείκτες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην περίπτωση χρόνιας κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης (Achur et al., 2010).

Ανεξάρτητα από τη φύση του μορίου ή της εξέτασης, ο καλύτερος βιοδείκτης είναι αυτός που μπορεί να διαγνώσει αποτελεσματικά το πρότυπο κατανάλωσης. Επομένως, αν και μπορεί να θεωρηθεί ελκυστική η επιλογή ενός μορίου ως βιοδείκτης, αποδεικτικά στοιχεία δηλώνουν ότι μία ομάδα μορίων σε συνδυασμό μπορεί να λειτουργήσει ως καλύτερος βιοδείκτης όσον αφορά στην ευαισθησία και ειδικότητα (Achur, 2010).

3.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ

Οι δείκτες για την υπερβολικής πρόσληψη αλκοόλης μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο τύπους λόγω παθοφυσιολογικών ζητημάτων: δείκτες οξείας και χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης και δείκτες βλάβης οργάνων προκαλούμενων από την κατανάλωση αλκοόλης. Οι βιοχημικές μετρήσεις που παραδοσιακά συνδέονται με την επικίνδυνη κατανάλωση είναι η γ-γλουταμινική τρανσφεράση (γGT), η ασπαρτική ή αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALAT ή ASAT), ο μέσος όγκος ερυθρών (MCV) και η τρανσφερίνη με έλλειμμα υδατανθράκων (CDT), οι λεγόμενοι έμμεσοι δείκτες. Η έρευνα τα τελευταία χρόνια έχει αποκαλύψει αρκετούς βιοχημικούς βιοδείκτες με σημαντικό δυναμικό για πιο ακριβή αντιπροσώπευση της υπερβολικής και χρόνιας χρήσης αλκοόλης σε σχέση με τους παραδοσιακούς βιοδείκτες. Αυτοί οι δείκτες σχετίζονται με ενώσεις που παράγονται όταν το σώμα μεταβολίζει την αλκοόλη (άμεσοι δείκτες) ή μπορεί να αντανακλούν μεταβολές σε άλλα μόρια, κύτταρα ή ιστούς που προκύπτουν από χρόνια ή οξεία έκθεση στην αλκοόλη (έμμεσοι δείκτες) (Jastrzebska et al., 2016).

4. ΕΜΜΕΣΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

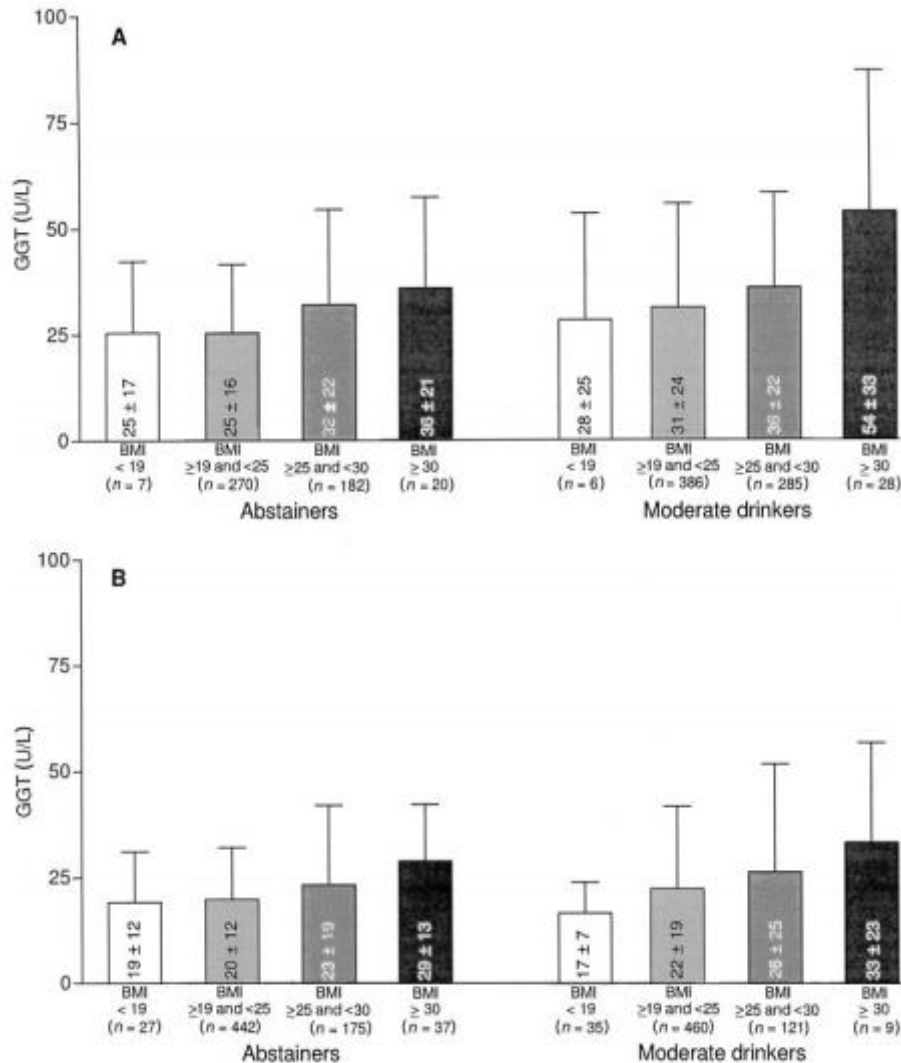
4.1 γ-Γλουταμυλική τρανσφεράση (γGT)

Η γ-γλουταμυλική τρανσφεράση (γGT) είναι ένα ένζυμο γλυκοπρωτεΐνης το οποίο βρίσκεται συνδεδεμένο στη μεμβράνη των κυττάρων, και το οποίο καταλύει τη μεταφορά της γ-γλουταμυλικής ομάδας γλουταθειόνης στους διάφορους πεπτιδικούς δείκτες. Η χρόνια κατανάλωση αιθανόλης είναι γνωστό ότι προκαλεί αύξηση της γGT στον ορό και σήμερα αποτελεί τον ευρύτερα χρησιμοποιούμενο δείκτη υπερβολικής πρόσληψης αιθανόλης (Conigrave et al., 2003). Παρόλο που αρκετές μελέτες

αναφέρουν ότι υπάρχει μία θετική συσχέτιση μεταξύ της αυξημένης πρόσληψης αιθανόλης και της δραστηριότητας γGT στον ορό, εντοπίζονται αξιοσημείωτες διακυμάνσεις στην ευαισθησία και στην εξειδίκευση σε κλινικό επίπεδο. Στις περισσότερες μελέτες η ευαισθησία της γGT υπερέβησαν εκείνες άλλων κοινώς χρησιμοποιούμενων δεικτών. Στο έργο των WHO/ISBRA τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένες συγκεντρώσεις γGT στον ορό σε ποσοστό 52% των εξαρτώμενων από την αιθανόλη δειγμάτων, σε σύγκριση με την ευαισθησία άλλων ενζύμων (Helander & Tabakoff, 1997).

Κατά την αξιολόγηση της πιθανότητας εμφάνισης μη φυσιολογικών επιπέδων της γGT με την κατανάλωση αιθανόλης, ο λόγος πιθανότητας ανήλθε στο 9,6 για κατανάλωση αιθανόλης υψηλότερη από 420g/εβδομάδα για τους άνδρες και 5,0 για τις γυναίκες με κατανάλωση υψηλότερη από 280g/εβδομάδα. Η ελάχιστη κατανάλωση αιθανόλης που απαιτούνταν για την αύξηση της γGT ήταν περίπου 74g/εβδομάδα για τους άνδρες και 60g/εβδομάδα για τις γυναίκες, η οποία είναι αρκετά χαμηλότερη σε σχέση με τις συνήθεις αναφερόμενες ποσότητες αιθανόλης (Sillanaukee et al., 2000).

Η παχυσαρκία αποτελεί σημαντικό παράγοντα ο οποίος μπορεί να αυξήσει τη γGT στον ορό. Οι επιδράσεις της παχυσαρκίας και της κατανάλωσης στη γGT φαίνεται να έχουν προσθετική δράση υποδεικνύοντας ότι μπορούν να αυξήσουν συνεργιστικά το μεταβολικό φορτίο και τον κίνδυνο ηπατικής βλάβης (Εικόνα 9) (Pukka et al., 2006).



Εικόνα 9. Οι μέσες κατανομές της δραστηριότητας της γ-γλουταμυλικής τρανσφεράσης (γGT) σε άνδρες (A) και γυναίκες (B) ταξινομούνται ανάλογα με την κατανάλωση αιθανόλης και το δείκτη μάζας σώματος (BMI). Παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του φύλου ($P < 0,0001$), το επίπεδο κατανάλωσης ($P < 0,01$) και του BMI ($P < 0,001$) (Puuka et al., 2006).

Υπάρχει γενική συμφωνία στο ότι απαιτούνται τουλάχιστον 5 ποτά ημερησίως ή και περισσότερα για αρκετές εβδομάδες για να αυξηθούν σημαντικά τα επίπεδα της γGT (SAMHSA, 2012). Η επαναφορά σε κανονικά επίπεδα επιτυγχάνεται μετά από 2-6 εβδομάδες αποχής (Allen, 2003). Πιθανόν, λόγω της λειτουργίας της στην απόκριση οξειδωτικού στρες, η γGT έχει αποδειχθεί ότι είναι δείκτης ανεξάρτητος της

καρδιαγγειακής νόσου, το οποίο καθιστά τη γGT χρήσιμο βιοδείκτη όχι μόνο για ηπατική βλάβη αλλά και για άλλες αιτίες συννοσηρότητας (SAMHSA, 2012).

Η γGT παρουσιάζει περιορισμούς ως βιοδείκτη για την κατάχρηση αιθανόλης. Η γGT αυξάνεται ανεξάρτητα από την αιθανόλη σε ανθρώπους με παχυσαρκία και η αυξημένη δραστηριότητα της γGT φαίνεται ότι σχετίζεται με μικρή πρόσληψη σε παχύσαρκους ασθενείς. Ο συσχετισμός με την παχυσαρκία είναι ακόμη μεγαλύτερος από την αιθανόλη σε μελέτες στις οποίες έγινε ανάλυση και των δύο παραμέτρων (Poikolainen & Vartiainen, 1997). Αυτό αποτελεί σημαντικό περιορισμό στη χρήση της γGT ως βιοδείκτη χρόνιας χρήσης αιθανόλης λόγω του αυξανόμενου ρυθμού παχυσαρκίας.

4.2 Ασπαρτική αμινοτρανσφεράση(ASAT) ή αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALAT)

Η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (ASAT) και η αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALAT) είναι ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των αμινοξέων, τα δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών. Η ALAT είναι ο πιο ειδικευμένος δείκτης της επαγόμενης από τη χρήση αιθανόλης ηπατικής βλάβης επειδή βρίσκεται κυρίως στο ήπαρ, ενώ η ASAT βρίσκεται σε πολλά όργανα, συμπεριλαμβανομένου του ήπατος, της καρδιάς, των μυών, των νεφρών και του εγκεφάλου. Πολύ υψηλά επίπεδα αυτών των ενζύμων (π.χ. >500U/l) μπορεί να υποδηλώνουν αλκοολική ηπατική νόσο, αλλά η αύξηση των επιπέδων αμινοτρανσφεράσης δεν εμφανίζει ειδικότητα για την ηπατική νόσο που σχετίζεται με την αλκοόλη, μπορεί επίσης να οφείλεται σε ιική ηπατίτιδα (Mancinelli & Ceccanti, 2009).

Οι δραστηριότητες των ενδοκυτταρικών ενζύμων ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (ASAT) και αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALAT) στον ορό θεωρούνται μη ειδικοί δείκτες κυτταρόλυσης και δεν υπάρχει καμία κατάσταση στην οποία να αυξηθεί σημαντικά μόνο μία δραστηριότητα ενώ η άλλη να παραμείνει σε φυσιολογικές τιμές. Ως αποτέλεσμα, γίνεται σύγκριση και των δύο δραστηριοτήτων και όταν η δραστηριότητα της ALAT είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη της ASAT, υπάρχει πιθανότητα ύπαρξης ηπατικής κυτταρόλυσης, ενώ όταν η δραστηριότητα της ASAT είναι μεγαλύτερη από εκείνη της ALAT τότε αυτό σημαίνει ότι ίσως πρόκειται για

μυϊκή κυτταρόλυση, συμπεριλαμβανομένου του εμφράγματος του μυοκαρδίου (Gonzalo et al., 2013).

Για τη διάγνωση χρησιμοποιείται ο λόγος ASAT/ALAT. Μία αναλογία μικρότερη της μονάδας υποδηλώνει διάγνωση ικτής ηπατίτιδας, ενώ μία αναλογία μεγαλύτερη της μονάδας υποδηλώνει αλκοολική ηπατική νόσο. Επί του παρόντος, ο λόγος ASAT/ALAT θεωρείται ένα από τα καλύτερα διαγνωστικά εργαλεία για την αναγνώριση της σχετιζόμενης με την αιθανόλη ηπατικής νόσου, παρά το γεγονός ότι λειτουργεί λιγότερο σωστά σε ασθενείς κάτω των 30 ετών ή άνω των 70 ετών (Mancinelli & Ceccanti, 2009).

Οι ALAT και ASAT παρουσιάζουν περιορισμό ως βιοδείκτες αλκοόλης διότι μπορεί να μεταβληθεί η τιμή τους με την παχυσαρκία, την αύξηση σωματικού βάρους, την πρόσληψη καφεΐνης και με φαρμακευτική αγωγή με αντιβιοτικά και στατίνες, βαλπροϊκό οξύ, τακρίνη και άτυπα αντιψυχωσικά. Ακόμη και η έντονη άσκηση και οι διάφορες μυϊκές διαταραχές μπορεί να προκαλέσουν αύξηση της ASAT (Kalapatapu & Chambers, 2009).

4.3 Μέσος όγκος ερυθρών (MCV)

Η μακροκυττάρωση έχει αναγνωριστεί ως άμεσα συνδεδεμένη με τον αλκοολισμό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ο μηχανισμός της μακροκυττάρωσης είναι ανεξάρτητος από την αναιμία και την ανεπάρκεια φυλλικού οξέος. Τα αίτια της μακροκυττάρωσης είναι πολύπλοκα και όχι πλήρως κατανοητά. Η δημιουργία δικτυοερυθροκυττάρων (37%), η θρομβοκυτταροπενία (41%) και η συνδυαστική κυτταροπενία (36%) σχετίζονται επίσης με μακροκυττάρωση στον αλκοολισμό. Η αιθανόλη και ο μεταβολίτης της ακεταλδεΐδης έχουν τοξική επίδραση στο μυελό των οστών. Η κενотоπία των πρόδρομων ερυθροκυττάρων και μεγακαρυοκυττάρων βρίσκεται σε ποσοστό περίπου 20% σε αλκοολικούς ασθενείς. Παρατηρείται επίσης αναστολή της σύνθεσης της αιμίνης αν και δεν έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της μέσης συγκέντρωσης αιμοσφαιρίνης (Gonzalo et al., 2013).

Η ακεταλδεΐδη είναι ένας ισχυρός παράγοντας που είναι ικανός να αντιδρά με πρωτεΐνες και να σχηματίζει σταθερά προϊόντα που τροποποιούν σε λειτουργικό

επίπεδο αυτές τις πρωτεΐνες. Τέτοιες τροποποιήσεις έχουν παρατηρηθεί στις απολιποπρωτεΐνες και μπορεί να είναι υπεύθυνες για τις υψηλές συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων και λιποπρωτεϊνικής χοληστερόλης που παρατηρούνται σε περιπτώσεις χρόνιας χρήσης αιθυλικής αλκοόλης. Αυτά τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα προκαλούν επίσης αύξηση στα ειδικά αντισώματα, κυρίως στην ανοσοσφαιρίνη A αλλά και στην ανοσοσφαιρίνη M που είναι συνδεδεμένα στα ερυθροκύτταρα και τα οποία μπορούν να εξηγήσουν τη μακροκυττάρωση και άλλες αιματολογικές ανωμαλίες που παρατηρούνται στην περίπτωση χρόνιας κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης (Gonzalo et al., 2013).

Η αύξηση του μέσου όγκου των ερυθρών (MCV) περισσότερο από 98 fL (τα φυσιολογικά επίπεδα είναι μεταξύ 82 και 96 fL), αποτελεί ένδειξη βαριάς χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης (μέση MCV 96 ± 4 fL σε >40 -500g αιθανόλης ημερησίως). Σε ανθρώπους με χρόνια κατανάλωση αλκοόλης με δόση χαμηλότερη από 40g ημερησίως, το ανώτερο φυσιολογικό όριο για το MCV είναι 98 fL (μέσο, MCV 90 ± 3 fL) συγκριτικά με την τιμή 96 fL για τους απέχοντες (μέσο MCV $89 \pm 3,5$ fL). Ο καθορισμός της μακροκυττάρωσης με τη χρήση της τιμής 98 fL έχει μεγάλη σημασία επειδή σε πολλές μελέτες η μακροκυττάρωση ορίζεται για τιμές πάνω από 95 fL, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη χαμηλή ειδικότητα ενώ αυξημένη ευαισθησία (Gonzalo et al., 2013).

Η ευαισθησία και ειδικότητα κυμαίνονται από 40-90% ανάλογα με την τιμή προσδιορισμού της μακροκυττάρωσης και από τον πληθυσμό. Περισσότερες από 50 μελέτες αναφέρουν στα αποτελέσματά τους ότι η ευαισθησία υπολογίζεται στο 33% και η ειδικότητα στο 90%. Επομένως η ευαισθησία του MCV για την ανίχνευση κατάχρησης αλκοόλης σε ασθενείς θα ήταν χαμηλότερη από αυτή της γGT (44%). Η μακροκυττάρωση θα μπορούσε επίσης να ανιχνεύσει την πιο βαριάς μορφής χρόνια κατανάλωση αλκοόλης από ό,τι η γGT. Ωστόσο, η αύξηση των επιπτώσεων της γGT παρατηρήθηκε μόνο σε περιπτώσεις κατανάλωσης αλκοόλης που υπερέβη τα 420g την εβδομάδα, το οποίο βρίσκεται στο ίδιο εύρος με εκείνο που απαιτείται για την αύξηση του MCV πάνω από 98 fL. Επομένως είναι πιθανό και οι δύο δείκτες να είναι ανιχνεύσιμοι μόνο σε περίπτωση επιβλαβών επιπέδων κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης (Gonzalo et al., 2013).

Δεδομένου ότι η διάρκεια ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι 120 ημέρες, αναμένεται ότι απαιτείται η βαριά χρόνια κατανάλωση αλκοόλης σε διάστημα αρκετών μηνών για να προκληθεί σημαντική αύξηση του MCV, χωρίς οι μελέτες να μπορούν να το επιβεβαιώσουν αυτό. Για τον ίδιο λόγο, η επαναφορά σε κανονικά επίπεδα μετά από αποχή απαιτεί πολλούς μήνες, συνήθως 10-12 εβδομάδες. Η καθυστέρηση αυτή καθιστά το MCV μη κατάλληλο δείκτη για την υποτροπή (Gonzalo et al., 2013).

Η μακροκυττάρωση εμφανίζεται σε ασθενείς που παρουσιάζουν ανεπάρκεια σε βιταμίνη B12, αλλά αντίθετα με την παχυσαρκία ή τις ηπατοχολικές διαταραχές για την γGT, αυτές οι περιπτώσεις είναι εξαιρετικά σπάνιες. Η απόδοση της γGT είναι χαμηλότερη στους νέους ενήλικες και στις γυναίκες, κάτι που δεν συμβαίνει στην περίπτωση της μακροκύττωσης. Επομένως, το MCV αποτελεί ένα πιο αξιόπιστο δείκτη βαριάς κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης από τη γGT. Το MCV μεμονωμένα έχει περιορισμένο ενδιαφέρον για τον έλεγχο της χρόνιας κατάχρησης αλκοόλης διότι μπορεί να ανιχνεύσει μόνο ένα ορισμένο αριθμό ασθενών με βαριά χρόνια κατανάλωση αλκοόλης. Ωστόσο, οι περιορισμοί του είναι μικροί σε σύγκριση με αυτούς της γGT και έτσι το MCV (>98 fL) μπορεί να είναι ο καλύτερος από τους παραδοσιακούς βιοδείκτες και επιπλέον η δοκιμή είναι εύχρηστη με χαμηλό κόστος (Gonzalo et al., 2013).

4.4 Τρανσφερίνη με έλλειψη υδατανθράκων (CDT)

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλης παρεμβαίνει στη γλυκοζυλίωση αρκετών γλυκοπρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένης της τρανσφερίνης. Η μέτρια ως βαριά κατανάλωση αλκοόλης (50-80g) ημερησίως για κάποιες ημέρες μειώνει την περιεκτικότητα τρανσφερίνης σε υδατάνθρακες, αυξάνοντας το ελεύθερο σιαλικό οξύ και την τρανσφερίνη με έλλειψη σιαλικού οξέος. Ο CDT είναι επομένως βιοδείκτης της μέτριας και βαριάς κατανάλωσης αλκοόλης. Τα επίπεδα της CDT επανέρχονται σε φυσιολογικές τιμές εντός περίπου 2 εβδομάδων από τη διακοπή κατανάλωσης αλκοόλης. Ως εκ τούτου, η CDT είναι ένας χρήσιμος έμμεσος βιοδείκτης τόσο για την αρχική διάγνωση όσο και για περιπτώσεις υποτροπής. Η CDT εκφράζεται γενικά

ως το ποσοστό CDT διαιρούμενο με την ποσότητα ολικής τρανσφερίνης (Nanau & Neuman, 2015).

Μελέτες έδειξαν ότι η CDT χρησιμοποιείται περισσότερο σε περιπτώσεις κατάχρησης αλκοόλης παρά σε περιπτώσεις επικίνδυνης πρόσληψης αλκοόλης ή στιγμιαίας αύξησης κατανάλωσης με πιο ακριβή αποτελέσματα σε άτομα εξαρτημένα από την αλκοόλη σε σχέση με εκείνα που καταναλώνουν μεγαλύτερη ποσότητα αλκοόλης χωρίς να είναι εξαρτημένα (Montalto & Bean, 2003). Σε μία μελέτη (WHO/ISBRA) τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα της τρανσφερίνης ήταν 60% και 92% αντίστοιχα σε ανδρικό πληθυσμό και 29% και 92% σε γυναικείο πληθυσμό για πρόσληψη 80g αλκοόλης ημερησίως για τους άνδρες και 40g αλκοόλης για τις γυναίκες (Anderson et al., 2005).

Το σημαντικό πλεονέκτημα της CDT είναι ότι εμφανίζει υψηλή ειδικότητα (Anderson et al., 2005). Το μειονέκτημα είναι ότι η CDT επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως ο BMI, το φύλο και η γενετική αλλά όχι από την ηλικία των ασθενών. Αυξημένες τιμές CDT μπορεί να εμφανιστούν σε περιπτώσεις ασθενών με σηψαιμία, νευρική ανορεξία και χαμηλές τιμές μπορεί να παρατηρηθούν σε υψηλό φορτίο σιδήρου. Αν και η CDT δεν επηρεάζεται συνήθως από την παρουσία ηπατικής νόσου, έχουν αναφερθεί ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς με πρωτοπαθή χολική κίρρωση και με σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια. Ως αποτέλεσμα, η χρησιμότητα της CDT ως βιοδείκτη εξαρτάται από την κλινική εικόνα και άλλες βιοχημικές εξετάσεις (Nanau & Neuman, 2015, Bergstrom & Helander, 2008, Helander et al., 2001).

4.5 5-Υδροξυ-τροπτοφόλη (5-HTOL)

Η 5-υδροξυτροπτοφόλη (5-HTOL) αποτελεί έναν από τους δευτερεύοντες μεταβολίτες του νευροδιαβιβαστή σεροτονίνης και αποτελεί φυσιολογικό συστατικό των ούρων. Η αλκοόλη και ο πρωτεύων οξειδωτικός μεταβολίτης του η ακεταλδεϋδη επιδρά στο μεταβολισμό της σεροτονίνης, έτσι ώστε η συγκέντρωση της 5-HTOL να ανιχνεύεται στα ούρα για 5-15 ώρες (ανάλογα με τη δόση) μετά την πρόσληψη αλκοόλης, σε σύγκριση με τις τυπικές μετρήσεις, οι οποίες μπορούν να μετρήσουν την αιθανόλη στα ούρα για λίγο περισσότερο από μία ώρα για κάθε ποτό που

καταναλώνεται. Αν και απαιτείται εκτενέστερη μελέτη για το βιοδείκτη, προκαταρκτικές μελέτες δείχνουν ότι η 5-HTOL παρουσιάζει ειδικότητα και ευαισθησία στην ανίχνευση πρόσφατης βαριάς κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης (Jastrzebska et al., 2016, Beck & Helander, 2003). Έρευνες έχουν δείξει ότι η αναλογία της 5-HTOL προς ένα άλλο μεταβολίτη σεροτονίνης το 5-υδροξυϊνδολο-3-οξικό οξύ (5-HIAA) αποτελεί εναλλακτικό δείκτη για την ανίχνευση αιθυλικής αλκοόλης στον οργανισμό. Η αναλογία 5-HTOL:5-HIAA βρέθηκε να παρουσιάζει 100% ευαισθησία έως και 4 ώρες μετά από μέτρια κατανάλωση αλκοόλης, αλλά η αξιοπιστία της μειώνεται αρκετά γρήγορα μετά από 7 ώρες. Ο περιορισμός της 5-HTOL ως βιοδείκτη είναι ότι σε ασθενείς στους οποίους χορηγείται το αντιπηκτικό φάρμακο disulfiram μπορεί να παρουσιαστεί αύξηση των επιπέδων της 5-HTOL. Το σύντομο χρονικό πλαίσιο και οι εξελιγμένοι μέθοδοι προσδιορισμού που χρησιμοποιούνται σήμερα περιορίζουν τη διαγνωστική ικανότητα αυτών των βιοδεικτών για την αξιολόγηση της χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης (Jastrzebska et al., 2016).

4.6 Ολικό σιαλικό οξύ στον ορό

Στους ανθρώπους, τα σιαλικά οξέα είναι κύριως συνδεδεμένα με τις αλυσίδες υδατανθράκων των γλυκοπρωτεϊνών, π.χ. τρανσφερίνη και Apo J και γλυκολιπίδια. Εκτός από τα δύο αυτά κλάσματα του σιαλικού οξέος, το ολικό σιαλικό οξύ στο ορό (TSA) περιλαμβάνει επίσης ένα μικρό κλάσμα ελεύθερου σιαλικού οξέος του ορού (FSA) που παράγεται από της γλυκοπρωτεΐνες. Τα επίπεδα των TSA και FSA στον ορό κατά τη διάρκεια της υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλης φαίνεται να εξαρτώνται από τις αλλαγές στις σιαλυλιωμένες γλυκοπρωτεΐνες (Jastrzebska et al., 2016).

Μελέτες δείχνουν ότι η συγκέντρωση σε TSA αποτελεί δυνητικό βιοδείκτη για την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλης. Η διαγνωστική αξία του TSA ως βιοδείκτη κατάχρησης αλκοόλης έδειξε ευαισθησία 48-58% και ειδικότητα 64-96%. Δυστυχώς διάφορες ασθένειες και καταστάσεις όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, οι νεφροπάθειες, οι καρδιαγγειακές παθήσεις ή η εγκυμοσύνη μπορεί να δείξουν αυξημένη συγκέντρωση TSA στον ορό, μειώνοντας έτσι την ειδικότητά του. Ωστόσο, σε

ερευνητικό πλαίσιο τα επίπεδα του TSA δεν διέφεραν πολύ μεταξύ των ατόμων με αυξημένη και φυσιολογική δραστηριότητα των ηπατικών ενζύμων, σε αντίθεση με ένα κλάσμα σιαλικού οξέος δεσμευμένου σε λιπίδια (Jastrzebska et al., 2016).

Παρά την έλλειψη ειδικότητας, το TSA μπορεί να θεωρηθεί ως ένα καλό εργαλείο ανίχνευσης αλκοόλης ανεξάρτητα από την παρουσία ηπατοκυτταρικής βλάβης. Επειδή τα επίπεδα TSA απαιτούν περισσότερο χρόνο από από ό,τι εκείνα των CDT ή γGT για να μειωθούν κατά τη διάρκεια των περιόδων αποχής, η δοκιμή με TSA μπορεί να μην έχει μεγάλη χρησιμότητα σε προγράμματα θεραπείας ασθενών με υποτροπή. Σε προκαταρκτικές μελέτες έχει δειχθεί ότι υπάρχουν αυξημένες συγκεντρώσεις FSA στον ορό αλκοολικών ατόμων. Η διαγνωστική ακρίβεια έφτασε έως και 85-94%, αν και η ευαισθησία ήταν σε χαμηλά επίπεδα (περίπου 40%) (Jastrzebska et al., 2016).

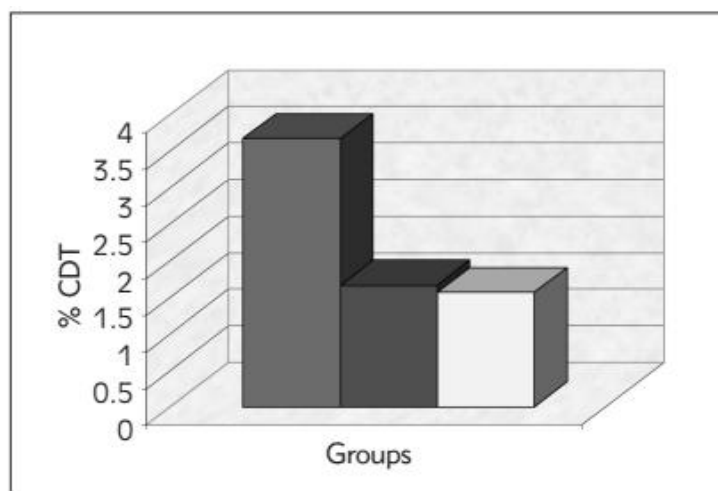
Σε σύγκριση με τους παραδοσιακούς δείκτες κατάχρησης αλκοόλης, η κλινική χρησιμότητα του FSA είναι αξιοσημείωτα χαμηλότερη από αυτή των CDT και γGT, παρά το γεγονός ότι η ειδικότητα και η θετική προγνωστική αξία αυτών των δοκιμών ήταν σε παρόμοια επίπεδα. Προς το παρόν, η κλινική σημασία της FSA περιορίζεται σε κληρονομικές ασθένειες, συμπεριλαμβανομένης της σιαλιδώσης και της νόσου Salla (Jastrzebska et al., 2016).

4.7 Συσχέτιση των έμμεσων βιοδεικτών

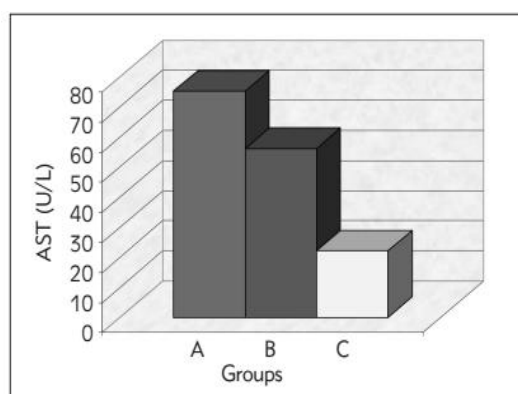
Οι βιοδείκτες όπως MCV, ASAT, ALAT και γGT οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό της χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης, στερούνται ειδικότητας και ευαισθησίας καθώς οι τιμές τους είναι αυξημένες σε περιπτώσεις ηπατοχολικών ασθενειών, δηλητηρίασης, παχυσαρκίας και χρήσης ορισμένων φαρμάκων. Ο βιοδείκτης CDT αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο βιοδείκτη χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης (Maksič et al., 2010).

Στη μελέτη των Maksič et al. (2010), έγινε σύγκριση των αναλυτικών τεχνικών για τον εντοπισμό χρόνιας κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης και συσχετισμός των βιοδεικτών. Ο αριθμός των ασθενών με βαριά χρήση αλκοόλης σε ημερήσια βάση ήταν 64 άτομα, 26 άτομα με φυσιολογική χρήση αλκοόλης και μία ομάδα ελέγχου

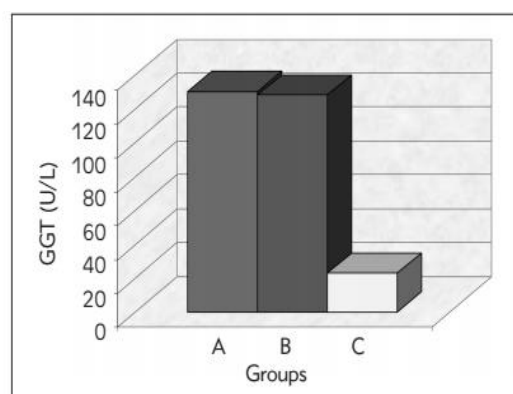
αποτελούμενη από άτομα που δεν κατανάλωναν αλκοόλη ή έκαναν χρήση σε σπάνιες περιπτώσεις. Έγινε προσδιορισμός των βιοδεικτών γ GT, MCV, ASAT και ALAT και στις τρεις ομάδες καθώς και προσδιορισμός του CDT μετά τον οποίο έγινε αξιολόγηση των αποτελεσμάτων τα οποία παρουσιάζονται στις Εικόνες 10, 11 και 12.



Εικόνα 10. Τιμές της %CDT σε ασθενείς από την ομάδα A (χρόνια κατανάλωση αλκοόλης), ομάδα B (απέχοντες από την αλκοόλη ή περιστασιακοί χρήστες) και ομάδα C (ομάδα ελέγχου) (Maksič et al. 2010).

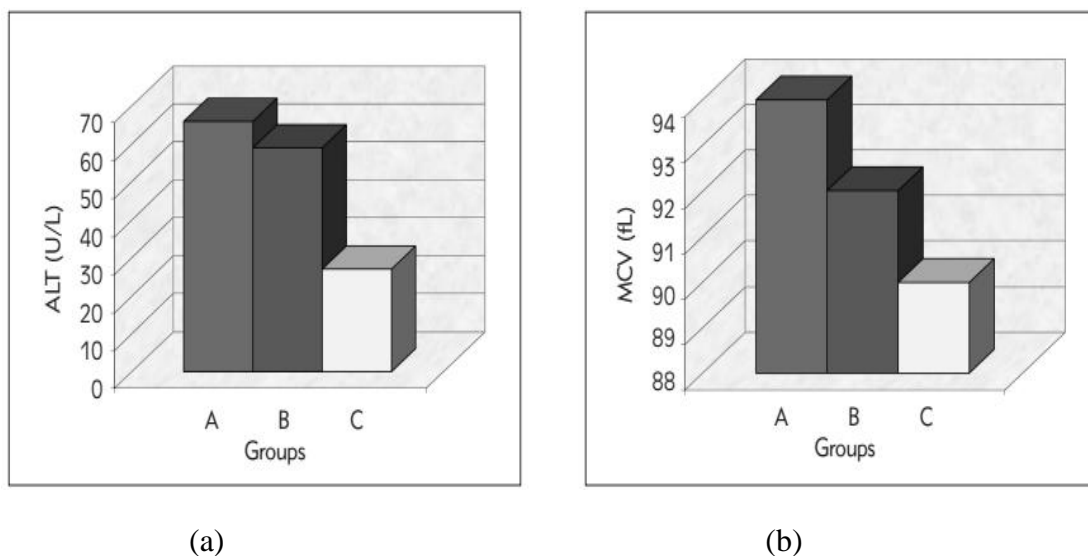


(a)



(b)

Εικόνα 11. Τιμές της παραμέτρου a) AST και b) γ GT από την ομάδα A (χρόνια κατανάλωση αλκοόλης), ομάδα B (απέχοντες από την αλκοόλη ή περιστασιακοί χρήστες) και ομάδα C (ομάδα ελέγχου) (Maksič et al. 2010).



Εικόνα 12. Τιμές τις παραμέτρων α) ALT και β) MCV από την ομάδα A (χρόνια κατανάλωση αλκοόλης), ομάδα B (απέχοντες από την αλκοόλη ή περιστασιακοί χρήστες) και ομάδα C (ομάδα ελέγχου) (Maksić et al. 2010).

Έγινε συσχέτιση των τιμών των βιοδεικτών με ένα μη παραμετρικό τεστ χρησιμοποιώντας τη συσχέτιση Spearman, δεδομένου ότι δεν υπήρχε κανονική κατανομή των δεδομένων (Πίνακας 3) (Maksić et al., 2010).

Πίνακας 3. Συσχέτιση των βιοδεικτών (Maksić et al. 2010).

Parameters	Group			
	A	B	C	All
CDT / AST	0.260	0.278	0.176	0.456
CDT / ALT	0.086	0.239	0.108	0.277
CDT / GGT	0.195	0.085	0.023	0.382
CDT / MCV	0.072	0.123	0.133	0.271

■ $p < 0.05$, there is a correlation between parameters within the examined groups

Ο προσδιορισμός των τιμών των βιοδεικτών έγινε αμέσως μετά την εισαγωγή των ασθενών σε νοσοκομείο και έπειτα από 2 εβδομάδες αποχής, με τα αποτελέσματα να παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. (Maksić et al. 2010).

Πίνακας 4. Τιμές των βιοδεικτών πριν και μετά την αποχή από την κατανάλωση αλκοόλης (Maksič et al. 2010).

Period	Statistical parameters	Parameters				
		CDT (%)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	MCV (fL)
Before	min	1.66	27	10	18	89
	\bar{x}	3.52	81.2	67.9	121.3	95.6
	max	5.81	322	201	913	105
After	min	1.31	19	18	13	84
	\bar{x}	2.17 *	51.1	48.4	99.17	94.5
	max	4.40	116	186	413	106

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η μέση τιμή του CDT (3,66%) στην ομάδα των ατόμων με χρόνια κατανάλωση ήταν στατιστικά υψηλότερη ($p < 0,05$) σε σύγκριση με την ομάδα των απεχόντων (1,66%), όπως και στη σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (1,56%), υποδεικνύοντας καλή συσχέτιση όσον αφορά στην ποσότητα αλκοόλης που εισάγεται στον οργανισμό (Maksič et al., 2010).

Οι μέσες τιμές της ASAT (75,33Y/L), ALAT (65,63 U/L) και γ GT (129,73 U/L) στην ομάδα των ατόμων με χρόνια χρήση αλκοόλης και στην ομάδα των απεχόντων/περιστασιακά χρηστών αλκοόλης ASAT (56,42 U/L), ALAT (58,81 U/L) και γ GT (128,04 U/L) ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με την ομάδα ελέγχου όπου η μέση τιμή της ASAT ήταν 21,90 U/L, ALAT 27,20 και γ GT 23,40 U/L. Η μέση τιμή του MCV (93,78 fL) στην ομάδα των ατόμων με χρόνια κατανάλωση αλκοόλης ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τη μέση τιμή στην ομάδα ελεγχου (90,20 fL) (Maksič et al., 2010).

Μετά τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων με πρόγραμμα SPSS 11.0, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπήρχε καλός συσχετισμός μεταξύ των βιοδεικτών (CDT/ASAT, $r=0,456$, CDT/ALAT, $r=0,277$, CDT/ γ GT, $r=0,382$, CDT/MCV, $r=0,271$) (Maksič et al. 2010).

5. ΑΜΕΣΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

5.1 Φωσφατιδυλική-αιθανόλη (PEth)

Η φωσφατιδυλική-αιθανόλη (PEth) είναι ένα φωσφολιπίδιο με δύο καρβοξυλικά οξέα μακριάς αλυσίδας που σχηματίζονται μόνο παρουσία αιθανόλης κάτω από τη δράση της φωσφολιπάσης D. Συνολικά 48 ομόλογα PEth έχουν αναγνωριστεί σε δείγματα αίματος από μία περίπτωση αυτοψίας που περιείχε από 14 έως 22 άτομα άνθρακα και από 0-6 διπλούς δεσμούς ανά μόριο. Το PEth που ήταν σε αφθονία ήταν το PEth 16:0/18:1 και PEth 16:0/18:2. Σε μία άλλη μελέτη ταυτοποιήθηκαν 17 είδη PEth σε άτομα που έκαναν κατάχρηση αλκοόλης (>0,001μM), οι κυρίαρχες από τις οποίες ήταν 16:0/18:0, 16:0/18:2 και 18:0/18:1. Σε άτομα με κανονική κατανάλωση αλκοόλης βρέθηκαν 2 PEth, δηλαδή 16:0/18:0 και 16:0/18:2 (Nanau & Neuman, 2015).

Η PEth έχει χρόνο ημισείας ζωής περίπου 4 ημερών στο αίμα ασθενών με χρόνια κατανάλωση αλκοόλης. Σε δείγμα υγιών ατόμων που κατανάλωναν το ισοδύναμο 1g/kg αλκοόλης για 5 συνεχείς ημέρες έπειτα από 3 εβδομάδες αποχής, ακολουθούμενες από άλλες 16 ημέρες αποχής μετά την ημέρα κατανάλωσης, τα μέγιστα επίπεδα PEth 16:0/18:1 μετρούμενα με LC-MS/MS, ήταν 45-138ng/mL 1 ώρα μετά την έναρξη της κατανάλωσης. Τα επίπεδα της PEth συνέχισαν να αυξάνονται και κατά τη διάρκεια των επόμενων ημερών, με κορυφαία τιμή την 74-237ng/mL μεταξύ των ημερών 3 και 6 (Gnann et al., 2012).

Στη μελέτη των Gnann et al. (2009), σε δείγμα αίματος που συλλέχθηκε από άτομο 3 ώρες έπειτα από την κατανάλωση 60g αλκοόλης, ανιχνεύθηκαν ίχνη 18:1/18:1, 16:0/16:0 και 18:1/16:0, ενώ δεν ανιχνεύτηκε ποσότητα PEth μετά από 3 εβδομάδες αποχής από την αλκοόλη.

Στη μελέτη των Aradottir et al. (2006), έγινε ανίχνευση ποσότητας 0,9 μM PEth σε άτομο με ιστορικό χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης, 9 ημέρες μετά από την τελευταία κατανάλωση, αποδεικνύοντας ότι η PEth μπορεί να εντοπιστεί μετά από σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα από τη διακοπή της κατανάλωσης σε άτομα με ιστορικό κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης.

Τα επίπεδα της PEth στο αίμα διακρίνονταν μεταξύ των ατόμων με βαριά κατανάλωση αλκοόλης (>60g//ημέρα) και ατόμων με κανονική κατανάλωση

αλκοόλης (μέση τιμή 3,897 έναντι 0,288μmol/L). Ως εκ τούτου, η PEth αποτελεί σημαντικό εργαλείο για τον εντοπισμό χρόνιας υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλης (Viel et al., 2012).

Επί του παρόντος, δεν υπάρχει αποδεκτό όριο αποκοπής για τη διάκριση μεταξύ των ατόμων με κανονική κατανάλωση αλκοόλης (<40g για τους άνδρες και <20g για τις γυναίκες), των ατόμων με κατανάλωση σε επικίνδυνες ποσότητες (40-60g/ημέρα) και ατόμων με χρόνια κατανάλωση αλκοόλης (>60g/ημέρα), παρόλο που το όριο των 0,7mol/L χρησιμοποιείται κάποιες φορές για την διάκριση των προβλημάτων που σχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλης (Nanau & Neuman, 2015).

Δεδομένου ότι ο σχηματισμός της PEth εξαρτάται ειδικά από τα επίπεδα αλκοόλης στο αίμα, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλης και των επιπέδων PEth στο αίμα. Οι εξετάσεις με τη χρήση της PEth μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό των πρώτων σημείων επιβλαβούς κατανάλωσης αλκοόλης και μπορούν να βοηθήσουν στην παρακολούθηση περιπτώσεων χρόνιας κατάχρησης ή εξάρτησης από την αιθυλική αλκοόλη. Η PEth έχει ευαισθησία 99% για την ανίχνευση υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλης με αποκοπή >0,22μM (Aradottir et al., 2006).

Τα επίπεδα των PEth στο αίμα δεν συσχετίζονται με τον αριθμό των ημερών με βαριά κατανάλωση αλκοόλης, τον αριθμό των ημερών κατά τις οποίες καταναλώθηκε οποιοδήποτε αλκοολούχο ποτό ή από τις ημέρες πριν την τελευταία κατανάλωση αλκοόλης, ούτε με τον μέσο όρο των ποτών την εβδομάδα. Παρατηρήθηκε ωστόσο τάση συσχέτισης με τις ημέρες από την τελευταία βαριά χρήση αλκοόλης, ενώ τα επίπεδα PEth συσχετίστηκαν σημαντικά με υψηλή κατανάλωση αλκοόλης κατά τη διάρκεια των προηγούμενων 1-4 ημερών αλλά όχι κατά τη διάρκεια του διαστήματος μεγαλύτερου από 5 ημέρες (Nanau & Neuman, 2015).

Παρατηρήθηκε έντονη συσχέτιση μεταξύ της PEth στο αίμα και των EtS και EtG στα ούρα, τα οποία στο σύνολό τους αποτελούν δείκτες πρόσφατης κατανάλωσης αλκοόλης. Η PEth δεν συσχετίζεται με τα επίπεδα του CDT, ούτε με άλλους βιοδείκτες σε άτομα που υποβάλλονται σε διαδικασία αποτοξίνωσης. Επιπρόσθετα, οι ασθένειες του ήπατος καθώς και η υπέρταση δεν επιδρούν στα ποσοστά PEth που βρίσκεται στο αίμα (Nanau & Neuman, 2015).

5.2 Αιθυλο-γλυκουρονίδιο (EtG) και Αιθυλικό-θειικό άλας (EtS) σε ούρα

Το αιθυλο-γλυκουρονίδιο (EtG) και το αιθυλικό-θειικό άλας (EtS) αποτελούν άμεσους βιοδείκτες χρήσης αιθυλικής αλκοόλης (Nanau & Neuman, 2015).

Το EtG είναι ένας δευτερεύων μη οξειδωτικός μεταβολίτης αλκοόλης που σχηματίζεται στο ήπαρ μέσω της σύζευξης αλκοόλης και γλυκουρονικού οξέος. Το EtG μπορεί να ανιχνευθεί σε διάφορα σωματικά υγρά, ιστούς και τρίχες μετά από λίγες ώρες από την κατανάλωση αλκοόλης και παραμένει ανιχνεύσιμο έως και 80 ώρες μετά την πλήρη απέκκριση της αλκοόλης από τον οργανισμό (Zimmer et al., 2002, Wurst et al., 2003). Στο αίμα μπορεί να ανιχνευθεί έως και 36 ώρες και στα ούρα για διάστημα 5 ημερών, πολύ μετά την αποβολή της αλκοόλης (Peterson, 2004).

Το EtS αποτελεί έναν άλλο δευτερεύων μεταβολίτη αλκοόλης που παράγεται μέσω της σύζευξης με θειικό άλας. Η αντίδραση αυτή διεξάγεται με ένζυμα κυτοσολικής σουλφοτρανσφεράσης (Kurogi et al., 2012).

Το EtG χρησιμοποιείται κυρίως για ανίχνευση βαριάς χρήσης αιθυλικής αλκοόλης. Αν και μόνο μια σχετικά χαμηλή ποσότητα αλκοόλης εξαλείφεται μέσω της γλυκουρονιδίωσης, το EtG είναι ένας σημαντικός βιοδείκτης που μπορεί να προσδιορίσει την κατανάλωση αλκοόλης (Peterson, 2004).

Σε μία μελέτη στην οποία έγινε ρύθμιση της συγκέντρωσης αλκοόλης στο αίμα ώστε να φτάσει τις τιμές 20,80, 120 mg/L, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το EtG στα ούρα ήταν πάντα ανιχνεύσιμο για τα όρια αποκοπής 100 και 200 ng/mL 12 ώρες μετά την κατανάλωση. Στις 12 ώρες, η σχετιζόμενη ευαισθησία με αυτές τις τιμές ήταν χαμηλή μετά την κατανάλωση μικρών δόσεων. Η ευαισθησία ήταν χαμηλή στις 24 ώρες αναξάρτητα από την ποσότητα της κατανάλωσης. Γενικά υπήρχε καλή συσχέτιση μεταξύ των EtG και EtS στα ούρα. Η αναφορά αυτή έδειξε ότι μέσω του EtG στα ούρα μπορεί να γίνει ανίχνευση ελαφριάς κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης κατά τις πρώτες 24 ώρες (Jatlow et al., 2014).

Η δοσολογία των ούρων με αυτούς τους δείκτες διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση της νηφαλιότητας των ανθρώπων που είναι σε πρόγραμμα αποκατάστασης και απέχουν από την κατανάλωση αλκοόλης. Τα EtG και EtS είναι

ανιχνεύσιμα από λίγες ώρες μέχρι και 2-3 ημέρες μετά την κατανάλωση μικρής ποσότητας αλκοόλης που περιέχεται σε μία ελαφριά μπίρα (Bianchi et al., 2013).

Αυτοί οι βιοδείκτες χαρακτηρίζονται επίσης από μεγάλη βιολογική μεταβλητότητα δεδομένου ότι είναι πιθανό μετά από την κατανάλωση ίσης ποσότητας αλκοόλης, τα άτομα με την ίδια συγκέντρωση αλκοόλης στο αίμα να έχουν διαφορετικά επίπεδα EtG και EtS στα ούρα τους. Για αυτό το λόγο, είναι δύσκολο να εκτιμηθεί η ποσότητα της ληφθείσας αλκοόλης και να προσδιοριστεί χρονικά η πρόσληψη εάν είναι γνωστή μόνο μία μέτρηση των βιοδεικτών. Για να αποφευχθεί η αλλοίωση των αποτελεσμάτων θεωρείται θετικό όριο ποσότητα μεγαλύτερη από 0,5 mg/L για το EtG και 0,1 mg/L για το EtS (Bianchi et al., 2013).

Σουηδικές μελέτες έχουν δείξει ότι στις λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, όπως η βακτηριακή υδρόλυση που εμφανίζεται σε δείγματα ούρων μολυσμένα με *E. Coli*, μπορεί να δώσει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα του EtG. Το EtG και το EtS μπορούν επίσης να μετρηθούν στο αίμα, αλλά με παρουσία για πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα από ό,τι στα ούρα (Bianchi et al., 2013).

Δεδομένου ότι τα EtG και EtS στα ούρα είναι βραχυπρόθεσμοι βιοδείκτες, μπορεί να προκύψουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα λόγω της χαμηλής πρόσληψης αλκοόλης (<3 ποτά) ή της μεγάλης διάρκειας που μεσολαβεί μεταξύ της πρόσληψης αλκοόλης και της συλλογής δειγμάτων (>16 ώρες). Από την άλλη πλευρά, οι δοκιμές με EtG και EtS είναι τόσο ευαίσθητες στην παρουσία αλκοόλης ώστε να μην είναι σε θέση να διακρίνουν την αποχή από τη χρήση αλκοόλης και την κατανάλωση χαμηλών επιπέδων και με αυτό τον τρόπο μπορεί να προκύψουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα ακόμη και από τυχαία έκθεση. Μεταξύ των ατόμων που δεν έχουν ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλης για τις τελευταίες 7 ημέρες, τα θετικά αποτελέσματα των EtG και EtS ενδέχεται να αντιπροσωπεύουν την κατανάλωση ποτών χωρίς αλκοόλη. Έτσι, οι παράγοντες που δεν σχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλης μπορεί να αλλοιώσουν περαιτέρω τα αποτελέσματα έτσι ώστε να υποτιμηθεί ή να υπερτιμηθεί η κατανάλωση αλκοόλης (Nanau & Neuman, 2015).

5.3 EtG και αιθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων (FAEEs) σε τρίχες

Ο διαγνωστικός έλεγχος σε τρίχες για ουσίες παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με άλλα πιο παραδοσιακά δείγματα όπως το αίμα και τα ούρα, από τα οποία

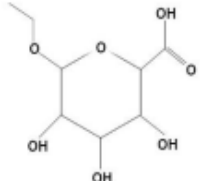
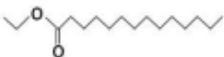


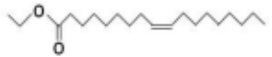
αυτό που είναι πιο εμφανές είναι η μη επεμβατική διαδικασία συλλογής δειγμάτων, η οποία προστατεύει την ιδιωτική ζωή και ενισχύει τη συνεργασία του εξεταζόμενου. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα να παρέχεται μεγάλο χρονικό περιθώριο για τη χρήση των ουσιών που κυμαίνεται από εβδομάδες έως μήνες ακόμη και χρόνια ανάλογα με το μήκος των μαλλιών και την ουσία που έχει αναλυθεί. Επιπλέον οι τρίχες έχουν το πλεονέκτημα του χαμηλού κινδύνου νοθείας και σε περίπτωση αλλοίωσης του δείγματος υπάρχει η δυνατότητα να ληφθεί ένα ίδιο δείγμα από το ίδιο άτομο ή ένα δείγμα που να αντιπροσωπεύει παρόμοια χρονική στιγμή (Barroso et al., 2011, Pragst & Balikova, 2006).

Η ανάλυση των τριχών καθίσταται δύσκολη όσον αφορά τα αναλυτικά όργανα που είναι απαραίτητα για την ανίχνευση των ενώσεων. Λόγω της υψηλής πολυπλοκότητας των δειγμάτων της τρίχας, η αναλυτική μέθοδος θα πρέπει να επιτρέπει την σαφή ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της επιθυμητής ουσίας, παρουσιάζοντας υψηλή εκλεκτικότητα. Ανάλογα με τη φύση της προς μελέτη ένωσης, μπορεί να γίνει χρήση υγρής (LC) ή αέριας (GC) χρωματογραφίας για το διαχωρισμό των ενώσεων. Προκειμένου να είναι δυνατή η ανίχνευση των χαμηλών συγκεντρώσεων, είναι αναγκαία η σύζευξη αερίων ή υγρών χρωματογράφων με φασματογράφο μάζας (MS) για τις υψηλές ευαισθησίες που παρέχουν και την ικανότητα για σαφή αναγνώριση των ενώσεων (Pragst & Balikova, 2006).

Ο προσδιορισμός της αιθανόλης στις τρίχες δεν είναι δυνατός λόγω της πτητικής φύσης της, του γρήγορου μεταβολισμού και του γεγονότος ότι δεν είναι ενσωματωμένη σταθερά. Επομένως, η ανάλυση των τριχών για την αξιολόγηση της κατανάλωσης αλκοόλης πραγματοποιείται μέσω του προσδιορισμού των μη οξειδωτικών μεταβολιτών της αιθανόλης, του EtG και των αιθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAEEs) (Pragst & Balikova, 2006).

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι φυσικές και χημικές ιδιότητες των βιοδεικτών του EtG και FAEEs (Oppolzer, 2016).

Πίνακας 5. Φυσικές και χημικές ιδιότητες των βιοδεικτών EtG και FAEEs (Oppolzer, 2016).

Compound	Structure	CAS ^a	Molecular Formula	MW ^b (g/mol)	K _{o/w} ^c
Ethyl Glucuronide		17685-04-0	C ₈ H ₁₄ O ₇	222.2	-1.4
Fatty Acid Ethyl Esters					
Ethyl myristate		124-06-1	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.4	6.7
Ethyl palmitate		628-97-7	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.5	7.8
Ethyl oleate		111-62-6	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310.5	8
Ethyl stearate		111-61-5	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.5	8.9

^a CAS: Chemical Abstract Service

^b MW: Molecular weight

^c K_{o/w}: octanol-water partition coefficients

Φαίνεται ξεκάθαρα από τους συντελεστές οκτανόλης/νερού (K_{o/w}) η υδροφιλική φύση του EtG. Ο μηχανισμός ενσωμάτωσης του EtG στις τρίχες παραμένει ασαφής αλλά με το δεδομένο ότι το EtG έχει προσδιοριστεί στον ιδρώτα, θεωρείται πως η κύρια οδός απέκκρισης είναι από τον ιδρώτα. Άλλες έρευνες έχουν δείξει την παρουσία του EtG στις τρίχες αρουραίων, οι οποίοι στερούνται ιδρωτοποιών αδένων στο τρίχωμά τους. Βάσει αυτού, υποτέθηκε ότι το αίμα μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο στην ενσωμάτωση του EtG στις τρίχες. Το EtG ενσωματώνεται ασθενώς κυρίως λόγω των όξινων ιδιοτήτων του (pK_a=3,21), το οποίο σημαίνει ότι υπάρχει σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις στις τρίχες, συνήθως στην περιοχή μερικών pictograms/mg τρίχας. Αυτό τονίζει την ανάγκη ευαίσθητων και επιλεκτικών τεχνικών για την ανάλυση των ενώσεων στις τρίχες και το γεγονός ότι επιβάλλεται η ανίχνευση μέσω φασματομετρίας μάζας (Oppolzer, 2016).

Σύμφωνα με μελέτη του Νορβηγικού Ινστιτούτου Δημόσιας Υγείας(2013), η οποία διεξήχθη σε έναν νεαρό ενήλικα πληθυσμό για να εξεταστεί ο προσδιορισμός της κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης σε δείγματα τρίχας έδειξε ότι μία μικρή ποσότητα (0,02-0,06%) καταπιεσμένης αιθανόλης απομακρύνεται ως EtG. Οι συγκεντρώσεις

EtG στα μαλλιά από άτομα με κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης κυμαίνονταν από 30 έως 13.300 pg / mg. Η ανίχνευση του EtG > 30 pg / mg είναι ένας ισχυρός δείκτης της χρήσης βαριάς αλκοόλης. Η καθημερινή πρόσληψη 16 g αιθανόλης (που αντιστοιχεί σε 1 ποτήρι κρασί) διερευνήθηκε από τους Kronstad *et al.*, η οποία έδειξε ότι η συγκέντρωση EtG στα μαλλιά ήταν <7 pg / mg. Η EtG βρέθηκε σε 2,5% ($\eta = 5$) των συλλεγέντων δειγμάτων. Οι συγκεντρώσεις EtG σε αυτή τη μελέτη κυμαίνονταν από 23 έως 72 pg / mg, πράγμα που σημαίνει ότι οι πέντε θετικές δοκιμές συλλέχθηκαν από άτομα με υψηλότερη κατανάλωση αλκοόλ (<https://academic.oup.com/jat/article/37/6/362/804220>).

Σε μια μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, σε άτομα με μέτρια κατανάλωση αλκοόλης η μέση συγκέντρωση του EtG στις τρίχες ήταν 7,5pg/mg, σε άτομα με βαριά κατανάλωση αλκοόλης η μέση τιμή ήταν 147pg/mg και σε αποθανόντα άτομα με ιστορικό χρόνιας υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλης η μέση τιμή βρέθηκε 586,1pg/mg, ενώ σε άτομα που δεν κατανάλωναν αλκοόλη η μέση τιμή βρέθηκε μικρότερη από 7pg/mg (Boscolo-Berto *et al.*, 2013).

Σε άλλη μελέτη, η κατανάλωση αλκοόλης σε ποσότητα των 16g/ημέρα για χρονικό διάστημα 3 μηνών δεν οδήγησε σε υψηλότερα επίπεδα των EtG στις τρίχες από το όριο των 7pg/mg για αποχή από την αλκοόλη, ενώ για κανένα από τα άτομα που κατανάλωσαν 32g/ημέρα η συγκέντρωση σε EtG δεν ξεπέρασε το όριο των 30pg/mg (Kronstrand *et al.*, 2012).

Στη μελέτη των Bertol *et al.* (2014), η οποία διεξήχθη σε υγιή άτομα, έγινε αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ της ημερήσιας πρόσληψης αλκοόλης και της συγκέντρωσης των FAEEs στις τρίχες, με σκοπό τη διαφοροποίηση στην αποχή από τη χρήση αλκοόλης από μέτρια (<60g/ημέρα) σε υπερβολική κατανάλωση αλκοόλης (>60g/ημέρα). Βάσει των συσχετίσεων μεταξύ της ημερήσιας πρόσληψης αλκοόλης και της συγκέντρωσης σε FAEEs, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αποκοπή 0,5ng/mg των FAEEs σε 3cm τρίχας αποτελεί το καλύτερο μέσο διάκρισης μεταξύ της μέτριας κατανάλωσης και της υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλης.

Σε άλλη μελέτη, τα μέσα επίπεδα των FAEEs σε συμμετέχοντες ήταν 0,87ng/mg \pm 214%, με 0,42ng/mg \pm 114 σε άτομα που δεν κατανάλωναν αλκοόλη ή προσλάμβαναν μέτρια ποσότητα και 1,41ng/mg \pm 186 σε άτομα με χρόνια χρήση αλκοόλης. Οι τιμές των FAEEs στα δείγματα τριχών παρουσίασαν ευαισθησία 59,3%

και ειδικότητα 91,0% για βαριά κατανάλωση αλκοόλης σε επίπεδο αποκοπής 0,675mg/mg. Σε 1057 περιπτώσεις αυτοψίας (168 άτομα με μέτρια κατανάλωση αλκοόλης, 502 άτομα με κατάχρηση αλκοόλης και 387 άτομα χωρίς επαρκή στοιχεία για τη χρήση αλκοόλης) έγινε αξιολόγηση των FAEEs. Τα μέσα επίπεδα των FAEEs ήταν 0,302ng/mg μεταξύ των ατόμων που κατανάλωναν μέτρια ποσότητα αλκοόλης και 1.346ng/mg μεταξύ των ατόμων που έκαναν κατάχρηση. Με αυτά τα ευρήματα υπολογίστηκε η βέλτιστη τιμή αποκοπής για τη διαφοροποίηση της πρώτης ομάδας από τη δεύτερη σε 1,08ng/mg (Hastedt et al., 2013).

Με δεδομένες τιμές των FAEEs που κυμαίνονταν μεταξύ 0,11ng/mg, με 46,3 % των δειγμάτων πάνω από την αποκοπή για βαριά κατανάλωση αλκοόλης (0,5ng/mg σε δείγματα μήκους <3cm και 1.0ng/mg σε δείγματα μήκους 3-6cm) μεταξύ ατόμων υπόπτων για κατάχρηση αλκοόλης σε περιπτώσεις προστασίας παιδιών. Οι τιμές των FAEEs έφτασαν πάνω από την αποκοπή σε 23,7% των αυτοαναφερόμενων ως μη χρήστες αλκοόλης, το 43,6% των αυτοαναφερόμενων ως μέτριοι χρήστες αλκοόλης και το 77,9% των αυτοαναφερόμενων ως άτομα με κατάχρηση αλκοόλης (Süsse et al., 2010).

Σε άλλη έρευνα αποδεικνύεται η σχετικά χαμηλή αξιοπιστία των αυτοαναφερόμενων προτύπων κατανάλωσης αλκοόλης. Οι FAEEs στις τρίχες παρουσιάζουν ειδικότητα 96% και ευαισθησία 77% για αποκοπή 1,0ng/mg (Süsse et al., 2012).

Ενώ το EtG στα ούρα μπορεί να συμβάλλει στην αναγνώριση της κατανάλωσης αλκοόλης λίγες μέρες μετά την απέκκριση της αλκοόλης από το αίμα, το EtG στις τρίχες παρέχει ένα δείκτη έκθεσης για πρότυπα μακροχρόνιας χρήσης αλκοόλης. Το EtG στις τρίχες αποτελεί ένα καλό εργαλείο για τον εντοπισμό της κατανάλωσης αλκοόλης αλλά γενικά αποτυγχάνει στην περίπτωση των αυτοαναφερόμενων προτύπων κατανάλωσης αλκοόλης (Nanau & Neuman, 2015).

Η παρουσία EtG στις τρίχες (>7pg/mg) διέψευσε την αποχή σε ποσοστό 54,5% ενός δείγματος ατόμων που ζητήθηκε να απέχουν από την κατανάλωση αλκοόλης. Οι ψευδείς δηλώσεις των ατόμων συχνά οδηγούν σε μεγάλο αριθμό ψευδώς θετικών και ως εκ τούτου αναξιόπιστη ευαισθησία και ειδικότητα με βάση το αυτοαναφερόμενο ιστορικό χρήσης αλκοόλης. Αρκετά συχνότερα εντοπίζονται θετικές τιμές EtG στις τρίχες (>7pg/mg) μεταξύ των ασθενών με ALD σε μεγάλο δείγμα ασθενών που είχαν

προγραμματισμένη υποβολή σε μεταμόσχευση ήπατος (32% μεταξύ ατόμων με ALD σε σύγκριση με 7% σε ασθενείς χωρίς ALD) (Nanau & Neuman, 2015).

Αντίθετα, τα αρνητικά αποτελέσματα από τους FAEEs δεν κατέδειξαν κατάχρηση αλκοόλης στο 42,3% (<0,2ng/mg) ατόμων με υποψία τέτοιας συμπεριφοράς, ενώ έδειξαν μέτρια κατανάλωση στο 29,5% (0,2-0,5ng/mg) και αποδεικνύοντας χρόνια υπερβολική κατανάλωση αλκοόλης στο 28,2% (0,5ng/mg). Διπλά αρνητικά ή διπλά θετικά αποτελέσματα (EtG>7pg/mg και FAEEs>0,2ng/mg) βρέθηκαν στο 72,6% των περιπτώσεων σε μικρό δείγμα ατόμων (Nanau & Neuman, 2015).

Με βάση αυτά τα ευρήματα, συνιστάται τα αποτελέσματα των FAEEs να χρησιμοποιούνται μόνο ως ενίσχυση των αποτελεσμάτων των EtG λόγω της υψηλής επίδρασης των διαφορούμενων αποτελεσμάτων κατά την ταξινόμηση των ατόμων ανάλογα με το πρότυπο κατανάλωσης αλκοόλης. Το EtG στις τρίχες ήταν ο μοναδικός βιοδείκτης ο οποίος μπορεί να διαφοροποιήσει την κατανάλωση αλκοόλης σε δείγμα ασθενών, των οποίων οι συνήθειες κατανάλωσης κλινικά ταξινομούνται σύμφωνα με τα επίπεδα κατανάλωσης αλκοόλης. Το EtG στις τρίχες ήταν ο καλύτερος βιοδείκτης για την αξιολόγηση της χρόνιας κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης. Ο συνδυασμός του EtG με οποιονδήποτε άλλο βιοδείκτη δεν βελτίωσε το διαγνωστικό δυναμικό του EtG μεμονωμένα για βαριά κατανάλωση αλκοόλης (Nanau & Neuman, 2015).

Τα EtG και FAEEs στις τρίχες ήταν σε συμφωνία σε ποσοστό 75,3% των δειγμάτων τριχών που ανήκαν σε άτομα που υποβλήθηκαν σε εξέταση οδήγησης, σε έλεγχο στο εργασιακό περιβάλλον ή σε περιπτώσεις κηδεμονίας παιδιών, συμπεριλαμβανομένων και των περιπτώσεων όπου και οι δύο βιοδείκτες δείχνουν αποχή ή κατανάλωση αλκοόλης. Ένας χαμηλός έως μέτριος συσχετισμός βρέθηκε μεταξύ των συνδυασμών των CDT, AST, ALT, MCV, EtG και FAEE σε δείγμα ατόμων που δεν κατανάλωναν αλκοόλη και αλκοολικών ατόμων. Το EtG στις τρίχες παρουσιάζει σημαντικές διαφορές μεταξύ των ατόμων που δεν κάνουν χρήση αλκοόλης, αυτών με μέτρια χρήση και εκείνων με κατάχρηση αλκοόλης, έτσι ώστε το EtG να μπορεί να κάνει διακρίσεις με βάση την κατανάλωση αλκοόλης, χρησιμοποιώντας μια τιμή αποκοπής των 60mg/ημέρα (Nanau & Neuman, 2015).

Η χρήση των βιοδεικτών σε τρίχες γενικά δεν είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό της απόλυτης αποχής, καθώς τα επίπεδα EtG και FAEE είναι ευαίσθητα σε

περιβαλλοντικούς παράγοντες και σε ποτά χωρίς αλκοόλη. Αυτό αποτελεί παράδειγμα σε μία αναφορά περίπτωσης κατά την οποία μία γυναίκα εμφάνισε σποραδικά χαμηλά επίπεδα και των δύο EtG και FAEE. Αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να ερμηνευθούν είτε ως χαμηλή κατανάλωση αλκοόλης είτε ως αποχή με την παρουσία περιβαλλοντικών παραγόντων και τη χρήση προϊόντων μαλλιών (Pragst, 2012).

Τα τονωτικά προϊόντα για τα μαλλιά μπορεί να περιέχουν EtG, ως εκ τούτου, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι εξωτερικές πηγές των EtG ειδικά εάν τα άτομα αρνούνται την κατανάλωση αλκοόλης (Pragst, 2012). Η βαφή των μαλλιών βρέθηκε ότι δεν έχει επίδραση στα επίπεδα EtG in vitro, ενώ η λεύκανση όσο και η αραίωση μειώνουν τα επίπεδα EtG σε μεγάλο βαθμό ως αποτέλεσμα χημικής αποδόμησης. Από την άλλη μεριά, η χρήση των hair sprays σχετίζεται με τα υψηλά επίπεδα των FAEEs στα μαλλιά τα οποία μπορεί να προκύπτουν από την αλκοόλη του προϊόντος. Λόγω των αντιπαραβαλλόμενων επιδράσεων των διαφόρων προϊόντων για τα μαλλιά σε EtG και FAEEs, ταυτόχρονη αξιολόγηση από FAEEs και EtG θα μπορούσε να βοηθήσει στην αποφυγή των ψευδώς θετικών ή αρνητικών αποτελεσμάτων (Süsse et al., 2012).

Το μέγεθος του δείγματος έχει γενικά ελάχιστη επίδραση. Ωστόσο σε κάποιες περιπτώσεις, δείγματα μήκους <3cm παρουσιάζουν ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα σε EtG, υποδηλώνοντας την ενσωμάτωση του EtG από τον ιδρώτα μετά την πρόσφατη κατανάλωση αλκοόλης. Ενώ η χρήση μεγαλύτερου μήκους τρίχας μπορεί να προσφέρει μακροπρόθεσμη αξιολόγηση της κατανάλωσης αλκοόλης, τα διαφορετικά πρότυπα κατανάλωσης αλκοόλης μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση των αποτελεσμάτων (Süsse et al., 2015).

Η ηλικία, το φύλο και ο δείκτης μάζας δεν επηρέασαν σημαντικά την ικανότητα του EtG στις τρίχες των μαλλιών να προβλέψει τα πρότυπα κατανάλωσης αλκοόλης. Ωστόσο, βρέθηκε σχετικά υψηλός βαθμός ανισότητας μεταξύ του EtG και των FAEE σε ένα δείγμα γυναικών που επιλέχθηκαν για παρακολούθηση χρόνιας χρήσης αλκοόλης. Αυτό υποδηλώνει ότι αυτοί οι δύο δείκτες πρέπει να χρησιμοποιούνται μαζί, ιδιαίτερα στην περίπτωση των γυναικών όπου η χρήση των προϊόντων για τα μαλλιά μπορεί να μεταβάλλει τα επίπεδα των EtG και FAEEs. Χρησιμοποιώντας συνδυαστικά EtG και FAEEs έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερο ποσοστό ψευδώς θετικών και αρνητικών. Σημειώθηκαν εποχιακές μεταβολές, που αντιστοιχούσαν στα

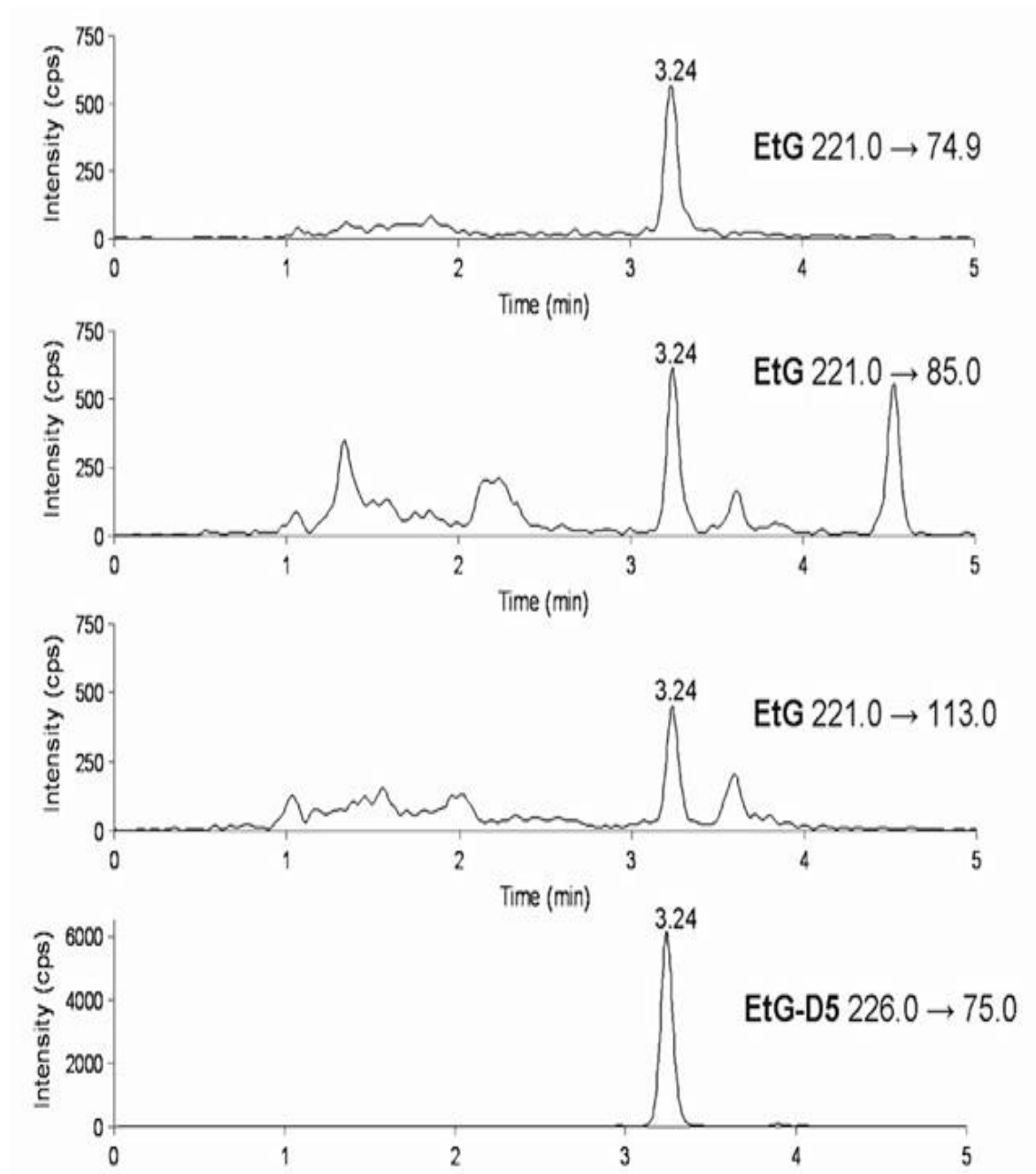
μοντέλα ανάπτυξης μαλλιών κατά τη διάρκεια του χειμώνα, της άνοιξης του καλοκαιριού και του φθινοπώρου. Ως εκ τούτου, τα υψηλότερα επίπεδα EtG βρέθηκαν κατά τη διάρκεια του χειμώνα και τα χαμηλότερα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Το βάρος του ατόμου δεν επηρέασε σημαντικά την ενσωμάτωση των FAEEs στις τρίχες των μαλλιών. Επιπλέον, η ενσωμάτωση των FAEEs στις τρίχες της κεφαλής και στις τρίχες εκτός της κεφαλής ήταν παρόμοια. Εντούτοις, οι FAEEs μπορούν να απομακρυνθούν κατά την πλύση των μαλλιών (Nanau & Neuman, 2015).

5.4 EtG σε τρίχες – Εγκληματολογικές παράμετροι

Το αιθυλο-γλυκουρονίδιο (EtG) είναι ένας άμεσος δείκτης χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης και η ανάλυσή του στις τρίχες είναι ένα αποτελεσματικό εργαλείο για τη διάγνωση της κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης. Το 2012, η Εταιρεία μαλλιών πρότεινε μια νέα συναίνεση για τις συγκεντρώσεις των μαλλιών, συμβουλεύοντας έντονα τη χρήση αναλυτικών μεθόδων παρέχοντας ένα όριο ποσοτικού προσδιορισμού μικρότερο από 3 pg / mg. Η αιθανόλη είναι μια ευρέως διαδεδομένη ουσία, η οποία είναι τακτικά εμπλεκόμενη σε τροχαία ατυχήματα ή σε επικίνδυνη συμπεριφορά και αποτελεί επίσης παράγοντα κινδύνου για πολλές ασθένειες.

Τα οφέλη του EtG στις τρίχες είναι περισσότερα σε σχέση από ότι στο αίμα και στα ούρα, με δυνατότητα ανίχνευσης και σε άλλες βιολογικές μήτρες (όπως τα νύχια) και δεδομένο ότι η συγκέντρωση του EtG στις τρίχες εμφανίζει υψηλότερη ευαισθησία και εξειδίκευση στην ανίχνευση της κατάχρησης της αιθανόλης από ότι άλλοι βιοδείκτες. Πράγματι, ο προσδιορισμός του EtG στις τρίχες επιτρέπει τη διάγνωση της κατανάλωσης αιθανόλης έως και 6 μήνες πριν από τον χρόνο δειγματοληψίας. Αυτό αντιστοιχεί στην ανάλυση των έξι πρώτων εκατοστών των τριχών και οι αναλύσεις σε άλλα τμήματα δεν συνιστώνται διότι τα δεδομένα αυτά δεν είναι αξιόπιστα λόγω της έκπλυσης, μόλυνσης ή αποικοδόμησης του EtG με τη χρήση οξειδωτικών καλλυντικών για τις τρίχες (Imbert et al., 2014).

Σύμφωνα με τη μελέτη των Imbert et al. (2014) η ανάλυση της τρίχας γίνεται χρησιμοποιώντας αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS) ή σε διπλή φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS), ή υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με τη διπλή φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS).



Εικόνα 13. Χρωματογράφημα σε μαλλιά με 3 pg / mg EtG

Παράδειγμα χρωματογραφίας παρουσιάζεται στην Εικόνα 13. Ο χρόνος κατακράτησης του EtG ήταν περίπου 3,25 λεπτά, επιτρέποντας έτσι βραχύτερες

διαδρομές (15 έναντι 25 λεπτών) και η κλίση χρησιμοποιήθηκε με την εμφάνιση λεπτότερων χρωματογραφικών κορυφών. Οι τιμές που καταγράφηκαν ήταν m / z 221,0 \rightarrow 74,9 για ποσοτικοποίηση, m / z 221,0 \rightarrow 85,0 και m / z 221,0 \pm 113,0 για επιβεβαίωση EtG, m / z 226,0 \rightarrow 74,9 για EtG-D5.

Τα αποτελέσματα EtG σε τρίχες έδειξαν υπερβολική κατανάλωση αλκοόλης για χρονικό διάστημα 17 μηνών πριν τη δειγματοληψία σε θύμα δολοφονίας (>170pg/mL), σε ένα οδηγό του οποίου η άδεια επιστράφηκε λόγω μη τακτικής κατανάλωσης αλκοόλης βρέθηκε στο δείγμα αλκοόλη (<10pg/mL) και σε άλλο οδηγό του οποίου είχε γίνει αφαίρεση της άδειας οδήγησης λόγω τακτικής κατανάλωσης αλκοόλης (<10pg/mL). Σε δείγμα ατόμων που δεν κατανάλωναν αλκοόλη τα επίπεδα του EtG δεν ήταν ανιχνεύσιμα (<1,0pg/mL) (Imbert et al., 2014).

Η παρούσα αναλυτική μέθοδος παρείχε ικανοποιητική γραμμικότητα σε σχέση με το εύρος βαθμονόμησης. Το RSD ήταν αποδεκτό και για την επαναληψιμότητα και με ενδιάμεση ακρίβεια με τιμές κάτω από 20% και για τα τρία επίπεδα συγκέντρωσης που ελέγχθηκαν. Η μέθοδος αυτή αξιολογήθηκε με επιτυχία σε προγράμματα εξωτερικού ελέγχου τόσο από τοξικολόγους όσο και από εγκληματολόγους και μπορεί να εφαρμοστεί σε περιπτώσεις εγκληματολογικής ρουτίνας. Ωστόσο, μια αξιολόγηση της εκχύλισης του EtG από τα μαλλιά πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω από θετικά δείγματα τρίχας κάνοντας μέτρηση της επαναληψιμότητας και της ενδιάμεσης ακρίβειας ή σε εμπορικά διαθέσιμο υλικό όπου προβλέπεται έλεγχος ποιότητας (Imbert et al., 2014).

6. ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΧΡΟΝΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ/ ΚΑΤΑΧΡΗΣΗΣ ΑΙΘΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ

Η ανάλυση της αιθυλικής αλκοόλης στα βιολογικά δείγματα είναι μια σημαντική μέθοδος για τον προσδιορισμό της οξείας χρήσης / κατάχρησης αιθανόλης τόσο στην κλινική όσο και στην εγκληματολογική τοξικολογία. Στις ιατροδικαστικές περιπτώσεις, είναι γνωστό ότι οι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται στη μεταθανάτια διαδικασία σήψης μπορούν να παράγουν οινόπνευμα και όταν το σώμα έχει τραυματιστεί. Σε κλινικό περιβάλλον, ο χρόνος μετά την κατάποση έχει κρίσιμο ρόλο για τον προσδιορισμό του επιπέδου της αιθανόλης σε βιολογικά υγρά και η αιθανόλη έχει μειωθεί κατά την περίοδο μετά την κατάποση, ειδικά σε χρόνιους χρήστες κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης. Από την άποψη αυτή, έχουν μελετηθεί νέοι βιοδείκτες για την αξιολόγηση της οξείας και χρόνιας χρήσης / κατάχρησης αιθανόλης σε κλινικές και ιατροδικαστικές περιπτώσεις.

Σύμφωνα με μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2014 σε μεταθανάτιες περιπτώσεις, συγκεντρώσεις αιθυλικής αλκοόλης στο αίμα, τα ούρα και το υαλώδες ανάλογα με την κατάσταση του σώματος η ανάλυση ούρων και υαλοειδών μπορεί επίσης να είναι χρήσιμη, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με το αίμα. Εάν κανένα από αυτά τα δείγματα δεν είναι διαθέσιμο, μπορεί να γίνει χρήση άλλων δειγμάτων οργάνων και ιστών, αλλά υπάρχουν δυσκολίες τόσο στη μεθοδολογία όσο και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων που σχετίζονται με οποιοδήποτε αλκοόλ που υπάρχει στην εισπνεόμενη αιθανόλη. Η αιθανόλη στα γαστρικά περιεχόμενα γενικά υποδεικνύει πρόσφατη κατάποση. Η ταχεία απορρόφηση της αιθανόλης και η μετά τη διάσπαση διάχυση από το στομάχι μπορεί να περιορίσουν τη χρησιμότητα της ανάλυσης των γαστρικών περιεχομένων. Είναι δυνατή η μέτρηση των παραμέτρων που σχετίζονται με την κατανάλωση αιθανόλης ή δείχνουν την κατανάλωση αιθανόλης. Πρόσφατα βρέθηκε ότι το αιθυλο-γλυκουρονίδιο (EtG), η 5-υδροξυτρυπτοφόλη (5-HTOL), η γ-γλουταμυλική τρανσφεράση (γGT), ο μέσος όγκος ερυθροκυττάρων (MCV) και αμινοτρανσφερασών έχουν ορισμένες εφαρμογές στο κλινικό και ιατρο-νομικό περιβάλλον για τον προσδιορισμό της χρήσης αιθανόλης καθώς και του ιστορικού κατάχρησης σε οξείες και χρόνιες καταστάσεις. (Kambiz et al,2014).

Τα τελευταία 20 χρόνια, οι δοκιμές της τρίχας έχουν κερδίσει όλο και πιο πολύ την προσοχή για την αναγνώριση της χρόνιας κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης. Οι τρίχες διαφέρουν από τα άλλα ανθρώπινα δείγματα (αίμα, ούρα) που χρησιμοποιούνται για την τοξικολογική ανάλυση λόγω της μοναδικής ικανότητας να είναι πολύ χρήσιμες στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση ξένων ουσιών σε σχέση με τη χρονική εμφάνιση στο αίμα διότι μπορούν να ανιχνευτούν από μήνες έως χρόνια εξαιτίας της σταθερής και ανθεκτικής φύσης τους. Τοξικά μεταλλικά ιόντα όπως ΠΙ, Αs, Ρb ή Ηg ήταν τα πρώτα δηλητήρια που μπορούσαν να αναλυθούν στα μαλλιά για να τεκμηριωθούν. Αργότερα, η ανάπτυξη των αναλυτικών τεχνολογιών, πρόσφερε μεθόδους με επαρκή ευαισθησία η οποία επέτρεψε την ανάλυση μαλλιών για οργανικές ουσίες. Οι τρίχες ως μέσο για τη διάγνωση της χρόνιας κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης έχουν λάβει αυξημένη προσοχή εξαιτίας ενός ευρύτερου χρονοδιαγράμματος ανίχνευσης, έχοντας λιγότερο ενοχλητικές περιστάσεις συλλογής και μεγαλύτερη σταθερότητα έναντι των υγρών του σώματος ή άλλων ιστών. Η βελτιωμένη αναλυτική τεχνολογία είχε ως αποτέλεσμα βελτιωμένη ευαισθησία και ακρίβεια παρέχοντας έτσι καλύτερη ποιότητα, επιστημονική κατανόηση και ερμηνεία δοκιμής. Σύμφωνα με αυτές τις προόδους θα προωθηθεί περαιτέρω η χρήση της ανάλυσης της τρίχας ως αντικειμενικό εργαλείο αποδείξεων. Λόγω της υψηλής ευαισθησίας τους και της ειδικότητας, νεότερες γενεές των τεχνολογιών GC-MS / MS και LC-MS / MS θα αποτελέσουν τυποποιημένα εργαλεία για την τοξικολογική χρήση στα εργαστήρια (Pragst & Balikova, 2006).

Επιπλέον, η χρήση της ανάλυσης της τρίχας θα είναι επέκταση στη διερεύνηση των βλαβερών ουσιών που δεν είναι μετρήσιμες με τις παρούσες τεχνικές. Η έρευνα για μια μόνο τρίχα σε σύντομο χρονικό διάστημα θα είναι δυνατή για τις οργανικές ουσίες και τη βούληση, παρέχοντας πρόσθετες πληροφορίες και βελτιωμένη ερμηνεία. Η εισαγωγή τεχνικών αυτοματοποίησης και βελτιωμένων μεθόδων για την προετοιμασία του δείγματος θα επιτρέψει την εφαρμογή της ανάλυσης των τριχών για δοκιμές μεγάλης κλίμακας και γενικότερη χρήση στο μέλλον (Pragst & Balikova, 2006).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Για την αποφυγή και τον έλεγχο της χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλης που οδηγεί σε εξάρτηση τα άτομα με αποτέλεσμα αρνητικές προσωπικές και κοινωνικές επιδράσεις, είναι σημαντικό να υπάρχουν αντικειμενικά εργαλεία τα οποία επιτρέπουν την έγκαιρη και αποτελεσματική διάγνωση.

Υπάρχουν βιοδείκτες με ευαισθησία και ειδικότητα που μπορούν να παρέχουν ποσοτικές πληροφορίες σχετικά με το επίπεδο κατανάλωσης της αλκοόλης, όπως οι CDT, EtG, PEth, FAEE, EtS. Η χρήση διαφορετικών μητρών και συνθηκών δειγματοληψίας μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμο εργαλείο για τη διατύπωση της σωστής διάγνωσης.

Η γGT παρουσιάζει περιορισμούς ως βιοδείκτη για την κατάχρηση αιθανόλης λόγω της συσχέτισης με την παχυσαρκία και άλλους παράγοντες.

Οι ALAT και ASAT παρουσιάζουν περιορισμό ως βιοδείκτες αλκοόλης διότι μπορεί να μεταβληθεί η τιμή τους με την παχυσαρκία, την αύξηση σωματικού βάρους, την πρόσληψη καφεΐνης και με φαρμακευτική αγωγή με αντιβιοτικά και στατίνες, βαλπροϊκό οξύ, τακρίνη και άτυπα αντιψυχωσικά. Ακόμη και η έντονη άσκηση και οι διάφορες μυικές διαταραχές μπορεί να προκαλέσουν αύξηση της ASAT.

Το MCV μεμονωμένα έχει περιορισμένο ενδιαφέρον για τον έλεγχο της χρόνιας κατάχρησης αλκοόλης διότι μπορεί να ανιχνεύσει μόνο ένα ορισμένο αριθμό ασθενών με βαριά χρόνια κατανάλωση αλκοόλης. Ωστόσο, οι περιορισμοί του είναι μικροί σε σύγκριση με αυτούς της γGT και έτσι το MCV (>98 fL) μπορεί να είναι ο καλύτερος από τους παραδοσιακούς βιοδείκτες και επιπλέον η δοκιμή είναι εύχρηστη με χαμηλό κόστος.

Το σημαντικό πλεονέκτημα της CDT είναι ότι εμφανίζει υψηλή ειδικότητα. Το μειονέκτημα είναι ότι η CDT επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως ο BMI, το φύλο και η γενετική. Έχουν αναφερθεί ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς

με πρωτοπαθή χολική κίρρωση και με σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια. Ως αποτέλεσμα, η χρησιμότητα της CDT ως βιοδείκτη εξαρτάται από την κλινική εικόνα και άλλες βιοχημικές εξετάσεις.

Ο περιορισμός της 5-HTOL ως βιοδείκτη είναι ότι σε ασθενείς στους οποίους χορηγείται το αντιπηκτικό φάρμακο disulfiram μπορεί να παρουσιαστεί αύξηση των επιπέδων της 5-HTOL. Το σύντομο χρονικό πλαίσιο και οι εξελιγμένοι μέθοδοι προσδιορισμού που χρησιμοποιούνται σήμερα περιορίζουν τη διαγνωστική ικανότητα αυτών των βιοδεικτών για την αξιολόγηση της χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης.

Σε σύγκριση με τους παραδοσιακούς δείκτες κατάχρησης αλκοόλης, η κλινική χρησιμότητα του FSA είναι αξιοσημείωτα χαμηλότερη από αυτή των CDT και γGT, παρά το γεγονός ότι η ειδικότητα και η θετική προγνωστική αξία αυτών των δοκιμών ήταν σε παρόμοια επίπεδα.

Οι εξετάσεις με τη χρήση της PEth μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό των πρώτων σημείων επιβλαβούς κατανάλωσης αλκοόλης και μπορούν να βοηθήσουν στην παρακολούθηση περιπτώσεων χρόνιας κατάχρησης ή εξάρτησης από την αιθυλική αλκοόλη. Η PEth έχει ευαισθησία 99% για την ανίχνευση υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλης με αποκοπή >0,22μM.

Δεδομένου ότι τα EtG και EtS στα ούρα είναι βραχυπρόθεσμοι βιοδείκτες, μπορεί να προκύψουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα λόγω της χαμηλής πρόσληψης αλκοόλης (<3 ποτά) ή της μεγάλης διάρκειας που μεσολαβεί μεταξύ της πρόσληψης αλκοόλης και της συλλογής δειγμάτων (>16 ώρες). Από την άλλη πλευρά, οι δοκιμές με EtG και EtS είναι τόσο ευαίσθητες στην παρουσία αλκοόλης ώστε να μην είναι σε θέση να διακρίνουν την αποχή από τη χρήση αλκοόλης και την κατανάλωση χαμηλών επιπέδων και με αυτό τον τρόπο μπορεί να προκύψουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα ακόμη και από τυχαία έκθεση.

Ο διαγνωστικός έλεγχος σε τρίχες για ουσίες παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με άλλα πιο παραδοσιακά δείγματα όπως το αίμα και τα ούρα, από τα οποία αυτό που είναι πιο εμφανές είναι η μη επεμβατική διαδικασία συλλογής δειγμάτων, η οποία προστατεύει την ιδιωτική ζωή και ενισχύει τη συνεργασία του εξεταζόμενου. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα να παρέχεται μεγάλο χρονικό περιθώριο για τη χρήση των ουσιών που κυμαίνεται από εβδομάδες έως μήνες και

χρόνια ανάλογα με το μήκος των μαλλιών και την ουσία που έχει αναλυθεί. Επιπλέον οι τρίχες έχουν το πλεονέκτημα του χαμηλού κινδύνου νοθείας και σε περίπτωση αλλοίωσης του δείγματος υπάρχει η δυνατότητα να ληφθεί ένα ίδιο δείγμα από το ίδιο άτομο ή ένα δείγμα που να αντιπροσωπεύει παρόμοια χρονική στιγμή.

Ενώ το EtG στα ούρα μπορεί να συμβάλλει στην αναγνώριση της κατανάλωσης αλκοόλης λίγες μέρες μετά την απέκκριση της αλκοόλης από το αίμα, το EtG στις τρίχες παρέχει ένα δείκτη έκθεσης για πρότυπα μακροχρόνιας χρήσης αλκοόλης. Το EtG στις τρίχες αποτελεί ένα καλό εργαλείο για τον εντοπισμό της κατανάλωσης αλκοόλης αλλά γενικά αποτυγχάνει στην περίπτωση των αυτοαναφερόμενων προτύπων κατανάλωσης αλκοόλης.

Με βάση τα ευρήματα ερευνών, συνιστάται τα αποτελέσματα των FAEEs να χρησιμοποιούνται μόνο ως ενίσχυση των αποτελεσμάτων των EtG λόγω της υψηλής επίδρασης των διαφορούμενων αποτελεσμάτων κατά την ταξινόμηση των ατόμων ανάλογα με το πρότυπο κατανάλωσης αλκοόλης. Το EtG στις τρίχες ήταν ο μοναδικός βιοδείκτης ο οποίος μπορεί να διαφοροποιήσει την κατανάλωση αλκοόλης σε δείγμα ασθενών, των οποίων οι συνήθειες κατανάλωσης κλινικά ταξινομούνται σύμφωνα με τα επίπεδα κατανάλωσης αλκοόλης. Το EtG στις τρίχες ήταν ο καλύτερος βιοδείκτης για την αξιολόγηση της χρόνιας κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης. Χρησιμοποιώντας συνδυαστικά EtG και FAEEs έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερο ποσοστό ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Achur, R. N., Freeman, W. M., & Vrana, K. E. (2010). Circulating Cytokines as Biomarkers of Alcohol Abuse and Alcoholism. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* □: *The Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 5(1), 83–91. <http://doi.org/10.1007/s11481-009-9185-z>
- Anderson, P., Gual, A., Colom, J. (2005). Alcohol and Primary Health Care: Clinical Guidelines on Identification and Brief Interventions. Department of Health of the Government of Catalonia: Barcelona
- Aradottir, S., Asanovska, G., Gjerss, S., Hansson, P., Alling, C. P (2006). Hosphatidylethanol (PEth) concentrations in blood are correlated to reported alcohol intake in alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol.*, 41, 431–437
- Baraona, E., Abittan, C.S., Dohmen, K., Moretti M, Pozzato G, Chayes ZW, Schaefer C, & Lieber CS. (2001). Gender differences in pharmacokinetics of alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 25:502–507, PMID: 11329488
- Barroso M, Gallardo E, Vieira D, López-Rivadulla M, Queiroz J. (2011). Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology. *Bioanalysis*, 3, 67–79
- Bergstrom J, Helander A. (2008). Influence of alcohol use, ethnicity, age, gender, BMI and smoking on the serum transferrin glycoform pattern: Implications for use of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as alcohol biomarker. *Clin Chim Acta*; 388: 59–67
- Bertol, E., del Bravo, E., Vaiano, F., Mari, F., Favretto, D. (2014). Fatty acid ethyl esters in hair: Correlation with self-reported ethanol intake in 160 subjects and influence of estroprogestin therapy. *Drug Test. Anal.*, 6, 930–935.
- Boscolo-Berto, R., Viel, G., Montisci, M., Terranova, C., Favretto, D., Ferrara, S.D. (2013). Ethyl glucuronide concentration in hair for detecting heavy drinking and/or abstinence: A meta-analysis. *Int. J. Leg. Med.*, 127, 611–619.

- Conigrave KM, Davies P, Haber P, Whitfield JB. (2003). Traditional markers of excessive alcohol use. *Addiction*, 98(Suppl 2):31–43
- Frone M., Russell M., and Cooper L. (1993). Relationship of work-family conflict, gender, and alcohol expectancies to alcohol use/abuse. *Journal of Organizational Behavior*, 14, Issue 6, pp545–558,
- Gnann, H., Weinmann, W., Engelmann, C., Wurst, F.M., Skopp, G., Winkler, M., Thierauf, A., Auwärter, V., Dresen, S., Bouzas, F.N. (2009). Selective detection of phosphatidylethanol homologues in blood as biomarkers for alcohol consumption by LC-ESI-MS/MS. *J. Mass Spectrom.*, 44, 1293–1299
- Gnann, H.; Weinmann, W.; Thierauf, A. (2012) Formation of phosphatidylethanol and its subsequent elimination during an extensive drinking experiment over 5 days. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 36, 1507–1511.
- Gonzalo, P., Radenne, S., Gonzalo, S. (2013). Biomarkers of chronic alcohol misuse. *Current Biomarker findings*, 4, 9-22
- Hassan, M. (2013). Factors Associated With Alcohol Abuse among University of Nairobi Students, Dissertation, University of Nairobi.
- Hastedt, M., Büchner, M., Rothe, M., Gapert, R., Herre, S., Krumbiegel, F., Tsokos, M., Kienast, T., Heinz, A., Hartwig, S. (2013) Detecting alcohol abuse: Traditional blood alcohol markers compared to ethyl glucuronide (EtG) and fatty acid ethyl esters (FAEEs) measurement in hair. *Forensic Sci. Med. Pathol.*, 9, 471–477.
- Helander A, Eriksson G, Stibler H, Jeppsson JO. (2001) Interference of transferrin isoform types with carbohydrate-deficient transferrin quantification in the identification of alcohol abuse. *Clin Chem*, 47: 1225–33.
- Imbert, L., Gaulier, J.M., Dulaurent, S., Morichon, J., Bevalot, F., Izac, P., Lachâtre, G. (2014). Improved liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the determination of ethyl glucuronide concentrations in hair: Applications to forensic cases. *Int. J. Leg. Med.*, 128, 53–58.
- Jastrzębska, I., Zwolak, A., Szczyrek, M., Wawryniuk, A., Skrzydło-Radomańska, B., & Daniluk, J. (2016). Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects. *d Gastroenterologiczny*, 11(2), 78–89.
<http://doi.org/10.5114/pg.2016.60252>
- Jatlow, P.I., Agro, A., Wu, R., Nadim, H., Toll, B.A., Ralevski, E., Nogueira, C., Shi, J., Dziura, J.D., Petrakis, I.L. *et al.* (2014) Ethyl glucuronide and ethyl sulfate assays in clinical trials, interpretation, and limitations: Results of a dose ranging alcohol challenge study and 2 clinical trials. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 38, 2056–2065

Kalapatapu, R. K., & Chambers, R. (2009) Novel Objective Biomarkers of Alcohol Use: Potential Diagnostic and Treatment Management Tools in Dual Diagnosis Care. *Journal of Dual Diagnosis*, 5(1), 57–82.

Kambiz Soltaninejad & Shahin Shadnia (2014) Biochemical markers of acute and chronic ethanol use: Forensic and Clinical Applications, 10 – 16

Kronstrand, R., Brinkhagen, L., Nyström, F.H. (2012) Ethyl glucuronide in human hair after daily consumption of 16 or 32 g of ethanol for 3 months. *Forensic Sci. Int.*, 215, 51–55

Kurogi, K., Davidson, G., Mohammed, Y.I., Williams, F.E., Liu, M.Y., Sakakibara, Y., Suiko, M., Liu, M.C. (2012) Ethanol sulfation by the human cytosolic sulfotransferases: A systematic analysis. *Biol. Pharm. Bull.*, 35, 2180–2185

Lee, S.L., Wang, M.F., Lee, A.I., & Yin, S.J. (2003). The metabolic role of human ADH3 functioning as ethanol dehydrogenase. *FEBS Letters* 544:143– 147, PMID: 12782305

Maksić, N., Vodnik, T., Stanković, M., et al. (2010) Carbohydrate-Deficient Transferrin - A Contemporary Biomarker in Comparison with Traditional Laboratory Markers of Chronic Alcohol Abuse. *Journal of Medical Biochemistry*, 29(2), pp. 95-101. Retrieved 6 Dec. 2017, from doi:10.2478/v10011-010-0011-

Mancinelli, R. & Ceccanti, M. (2009) Biomarkers in alcohol misuse: their role in the prevention and detection of thiamine deficiency *Alcohol & Alcoholism* 44 (2), 177-182,

Montalto NJ, Bean P. (2003). Use of contemporary biomarkers in the detection of chronic alcohol use. *Med Sci Monit*; 9: 285–90

Nanau, R. M., Neuman, M. G. (2015). Biomolecules and Biomarkers Used in Diagnosis of Alcohol Drinking and in Monitoring Therapeutic Interventions. *Biomolecules*, 5(3), 1339–1385. <http://doi.org/10.3390/biom5031339>

Oppolzer D. J. (2004) Hair Analysis for Alcohol Biomarkers: Assessing Excessive Consumption in a Student Population Thesis UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Peterson, K. Biomarkers for alcohol use and abuse—A summary. *Alcohol Res. Health* 2004, 28, 30–37

Poikolainen K, Vartiainen E. (1997) Determinants of gamma-glutamyltransferase: positive interaction with alcohol and body mass index, negative association with coffee. *Am J Epidemiol.* 146(12):1019–1024

Pragst F, Balikova M. (2006). State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta*, 370(1-2), 17–49

Pragst, F. (2012) Interpretation problems in a forensic case of abstinence determination using alcohol markers in hair. *Forensic Sci. Int.*, 217, e4–e7.

Puukka K, Hietala J, Koivisto H, Anttila P, Bloigu R, Niemelä O. (2006) Additive effects of moderate drinking and obesity on serum gamma-glutamyl transferase activity. *Am J Clin Nutr*;83:1351–4

Rehm, J. (2011). The Risks Associated With Alcohol Use and Alcoholism. *Alcohol Research & Health*, 34(2), 135–143.

SAMHSA. (2012) The Role of Biomarkers in the Treatment of Alcohol Use Disorders, Revision. Advisory. May 13, 2012;11(2):1–8.:

<http://adaiclearinghouse.org/downloads/Advisory-The-Role-of-Biomarkers-in-the-Treatment-of-Alcohol-Use-Disorders-434.pdf>

Schmidt, A.U. (2004). *Metabolites of ethanol as markers of alcohol abuse*. Inauguraldissertation, Universität Basel

Schuckit MA. (2009) Alcohol-use disorders. *Lancet*.;373:pp 492-501

Sillanaukee P, Massot N, Jousilahti P, et al. (2000) Dose response of laboratory markers to alcohol consumption in a general population. *Am J Epidemiol*. 152(8):747–751

Süsse, S., Bluemel, M., Pragst, F. (2015) Effect of the analyzed hair length on fatty acid ethyl ester (FAEE) concentrations in hair—Is there congruence of cut-offs for 0–3 and 0–6 cm hair segments? *Forensic Sci. Int.*, 249, 1–5.

Süsse, S., Pragst, F., Mieczkowski, T., Selavka, C.M., Elian, A., Sachs, H., Hastedt, M., Rothe, M., Campbell, J. (2012) Practical experiences in application of hair fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide for detection of chronic alcohol abuse in forensic cases. *Forensic Sci. Int.*, 218, 82–91

Süsse, S., Selavka, C.M., Mieczkowski, T., Pragst, F. (2010) Fatty acid ethyl ester concentrations in hair and self-reported alcohol consumption in 644 cases from different origin. *Forensic Sci. Int.*, 196, 111–117.

Viel, G., Boscolo-Berto, R., Cecchetto, G., Fais, P., Nalesso, A., & Ferrara, S. D. (2012) Phosphatidylethanol in Blood as a Marker of Chronic Alcohol Use: A

Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 14788–14812. <http://doi.org/10.3390/ijms131114788>

White IR, Altmann DR, Nanchahal K. (2002) Alcohol consumption and mortality: modelling risks for men and women at different ages. *BMJ* 325:191.

WHO/ISBRA Study on Biological State and Trait Markers of Alcohol Use and Dependence

(1997) Progress Report. WHO/ MSA/PSA/97. 11: pp. 1.40

Wurst, F.M.; Skipper, G.E.; Weinmann, W. (2003) Ethyl glucuronide—The direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction*, 98, 51–61.

Zakhari, S. (2006). Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol research & health: the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 29(4), 245-254

Zimmer, H, Schmitt, G., Aderjan, R. (2002) Preliminary immunochemical test for the determination of ethyl glucuronide in serum and urine: Comparison of screening method results with gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.*, 26, 11–16.

Καραπατάνης & Παπαστεργίου, (2012). Αλκοολική ηπατοπάθεια, Ελληνική Εταιρία Μελέτης ήπατος, Αθήνα.

Καρρά, Α. Κ., Σαρίδη, Μ., Σουλιώτης, Κ. (2014) Αλκοόλ και αλκοολισμός: μια σύγχρονη απειλή στο χώρο της υγείας. *Ελληνικό Περιοδικό της Νοσηλευτικής Επιστήμης*, 7(1): 27-36

Κατή, Σ. (2014). Η επίδραση της άσκησης στην οξειδοαναγωγική κατάσταση των βαρυπότων. Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

<https://www.britannica.com/science/alcohol/Ethanol>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethanol#section=Top>

http://www.who.int/substance_abuse/facts/alcohol/en/

http://www.itecref.com/pdf/Ethyl_Alcohol_Handbook_Equistar.pdf

<https://academic.oup.com/jat/article/37/6/362/804220> *Journal of Analytical Toxicology*, 362-368.

Dr James Nicholls, review of *Alcohol in World History*, (review no. 1452)

<http://www.history.ac.uk/reviews/review/1452> Τελευταία πρόσβαση 2/12/2017.