

## **Biomarkery nadużywania alkoholu. Część II. Nowe biomarkery oraz ich interpretacja**

### **Biomarkers of alcohol abuse. Part II. New biomarkers and their interpretation**

Napoleon Waszkiewicz<sup>1</sup>, Regina Popławska<sup>1</sup>, Beata Konarzewska<sup>1</sup>,  
Sławomir Dariusz Szajda<sup>2</sup>, Beata Galińska<sup>1</sup>, Piotr Rutkowski<sup>1</sup>,  
Radosław Leśniak<sup>3</sup>, Agata Szulc<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Psychiatrii UM w Białymstoku

Kierownik: dr hab. n. med. A. Szulc

<sup>2</sup> Zakład Biochemii Farmaceutycznej UM w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. K. Zwierz

<sup>3</sup> Oddział Psychiatrii Powiatowego Szpitala Specjalistycznego w Stalowej Woli

Kierownik: lek. med. P. Kułacz

#### **Summary**

An increasing number of new biomarkers of alcohol abuse appear in the literature. The most commonly used biomarkers (5-hydroxytryptophol, fatty acid ethyl esters, ethyl glucuronide, phosphatidyl ethanol, ethyl sulphate, mitochondrial aspartate aminotransferase, carbohydrate deficient transferrin, acetaldehyde adducts,  $\beta$ -hexosaminidase, and sialic acid) were described. Then other known and less known biomarkers associated with alcohol abuse were described in brief (e.g. acetaldehyde, acetate, methanol, alpha-amino-n-butyric acid, dolichol, proteomics). Their sensitivity and specificity is generally higher than that of traditional biomarkers. The time of detection in biological fluids occur from one day to few months after alcohol consumption. Hence, their usefulness in clinical practice as well as in experimental studies is increasing.

*Słowa klucze:* nadużywanie alkoholu, nowe biomarkery

*Key words:* alcohol abuse, new biomarkers

Wykorzystanie **tradycyjnych biomarkerów** nadużywania alkoholu (AST, ALT – aminotransferaza asparaginianowa i alaninowa, GGT – gamma-glutamylotransferaza, czy MCV – średnia objętość krwinek czerwonych) ograniczone jest ich niewielką czułością i swoistością, krótkim okresem półtrwania, który zależy od szybkości eliminowania metabolitów z płynów biologicznych po zakończeniu konsumpcji alkoholu [1, 2]. Przykładem może być oznaczanie stężenia etanolu we krwi i wydychanym powietrzu, które możliwe jest tylko przez kilka godzin od wypicia alkoholu

[3]. Ilość spożytego alkoholu musi być zazwyczaj odpowiednio duża, aby zaburzyć szlaki metaboliczne, zmienić właściwości fizykochemiczne lub strukturę związków chemicznych, umożliwiając ich wykorzystanie w diagnostyce jako tradycyjnych biomarkerów [4]. Poza tym testy tradycyjne bardziej podatne są na oddziaływanie różnego rodzaju czynników, takich jak: wiek pacjenta, płeć, stan fizjologiczny organizmu (np. ciąża), ogólny stan zdrowia oraz choroby wątroby [5].

Do praktyki klinicznej wprowadzanych jest coraz więcej nowych biomarkerów nadużywania alkoholu, bardziej czułych i specyficznych (np. CDT, glukuronian etylu) [2, 6]. Celem niniejszej pracy jest omówienie nowych testów pomocnych w diagnostyce nadużywania alkoholu, ich praktycznej przydatności w ocenie jego konsumpcji oraz monitorowaniu abstynencji, a także ich ograniczenia diagnostyczne.

### **Nowe biomarkery nadużywania alkoholu**

#### **mAST**

U osób zdrowych cytozolowy izoenzym aminotransferazy asparaginianowej stanowi powyżej 90% całkowitej surowiczej aktywności AST (tAST – total AST) [7]. Nadużywanie alkoholu uszkadza selektywnie mitochondria wątrobowe, uwalniając głównie mitochondrialny izoenzym AST (mAST) [8]. Niską specyficzność testu (z racji na wzrost jego wartości także w niealkoholowych chorobach wątroby) zwiększono do 82%, stosując wskaźnik mAST/tAST, który jednak nieco obniżył czułość testu [7, 9]. Przydatność mAST oraz wskaźnika mAST/tAST w detekcji picia ryzykownego jest niewielka (czułość 30–40%), natomiast wskaźnik ten jest bardzo przydatny w odróżnianiu alkoholowego uszkodzenia wątroby od niealkoholowego. Kilkutygodniowa abstynencja powoduje normalizację wartości mAST oraz mAST/tAST [7].

#### **CDT**

Ubogowęglowodanowe izoformy transferyny (CDT – Carbohydrate Deficient Transferin), czyli tzw. transferyna desialowana, są uznanym, wysoce czułym i specyficznym testem (82% i 97%, odpowiednio) w diagnostyce uzależnienia od alkoholu [7, 10]. Mimo że transferyna desialowana jest stosunkowo nowym markerem nadużywania alkoholu, jej używanie w diagnostyce staje się coraz bardziej powszechne i jest zaliczana zarówno do tradycyjnych, jak i nowych markerów nadużywania alkoholu [4, 5]. Jako jedyny test została zaakceptowana w USA przez FDA (The Food and Drug Administration) w identyfikacji pijących przewlekłe duże ilości alkoholu (tzw. *heavy drinkers*, czyli osoby wypijające regularnie > 6 porcji alkoholu dziennie, 1 porcja zawiera 10 g czystego alkoholu) [6]. Izoformy transferyny surowiczej zawierają od 0 do 9 reszt kwasu sialowego, z czego w 80% dominuje tetrasialotransferyna [4, 11]. Etanol i jego metabolity mogą prowadzić do zaburzeń funkcji enzymów odpowiedzialnych za proces wbudowywania reszt kwasu sialowego do transferyny (obniżenia się aktywności sialilotransferazy), jak też do zaburzeń enzymu uczestniczącego w modyfikacji transferyny (wzrostu aktywności sialidazy – usuwającej reszty kwasu sialowego) [10]. Inną

podawaną przyczyną wzrostu stężenia w surowicy form desialowanych transferyny jest indukowane alkoholem zaburzenie funkcji receptorów komórek wątrobowych, odpowiedzialnych za eliminację CDT [4]. W skład CDT wchodzi transferyna ze zmniejszoną ilością kwasu sialowego (asialo-, monosialo- i disialotransferyna) [12]. Przyjęte jest, że wypijanie od 50 do 80 g alkoholu dziennie przez minimum tydzień (lub > 60 g/d. przez 7–10 dni) zwiększa istotnie poziom CDT w surowicy, a po okresie krótkiej abstynencji nawet niewielkie ilości alkoholu potrafią znacznie zwiększyć surowiczy poziom CDT [7, 10, 13]. Stąd uważa się, że CDT jest bardziej czułym badaniem niż GGT w detekcji nawrotów picia (monitorowaniu abstynencji) i odróżnianiu alkoholowego od niealkoholowego uszkodzenia wątroby. CDT wykazuje niską czułość (12–45%) w populacji ogólnej, kobiet, osób młodych, *binge drinkers* (osób wypijających okazjonalnie, jednorazowo lub weekendowo > 5–6 porcji alkoholu) oraz osób zdrowych, nawet przy dużych dawkach alkoholu [7]. Jako test screeningowy w populacji ogólnej CDT nie jest bardziej czułym testem od GGT, wobec czego zwiększono jego czułość odnosząc wartość CDT do całkowitego poziomu transferyny (wskaźnik %CDT; CDT/całkowita transferyna) [12]. Podczas abstynencji poziom CDT wraca do normy w czasie kilku tygodni, z  $T_{1/2}$  ~ 15 dni [7]. Niektóre choroby obniżają specyficzność testu CDT. Należą do nich: niealkoholowe choroby wątroby (pierwotna marskość żółciowa, przewlekłe aktywne zapalenie, -HCV, hepatocellular carcinoma), genetyczny zespół niedoboru glikoprotein, transplantacje trzustki i nerek, cystic fibrosis, zaburzenia metabolizmu związane z insuliną, niedobór żelaza, galaktozemia, rak odbytu, otępienie starcze, depresja, ciąża, zatrucia rozpuszczalnikami [4, 7].

### 5-HTOL

Gdy człowiek jest zdrowy, serotonina jest metabolizowana w organizmie do kwasu 5-hydroksyindolooctowego (5HIAA) oraz do dominującego metabolitu – 5-hydroksytryptofolu (5-HTOL) [14]. Alkohol etylowy proporcjonalnie do dawki przesuwając metabolizm w kierunku tworzenia większej ilości 5-HTOL-u [15]. 5-HTOL uważa się za czuły wskaźnik nawrotów picia oraz niedawnej konsumpcji [14]. Wzrost stężenia 5-HTOL-u i obniżenie się 5HIAA mogą być badane w moczu i krwi i wykorzystane do określenia wskaźnika 5-HTOL/5-HIAA [15]. Przy dużej czułości (wykrywa konsumpcję już od 20 g alkoholu/dobę) oraz  $T_{1/2}$  ~ 15 godzin, wskaźnik 5-HTOL/5-HIAA może być przydatny w detekcji nadużywania nawet po 6–15 godzinach od eliminacji alkoholu z krwi, a więc po ~ 24 godzinach od konsumpcji [4, 7, 16].

### $\beta$ -HEX

Beta-heksozoaminidaza ( $\beta$ -HEX) jest glikohydrolazą lizosomalną, której aktywność wzrasta w moczu i krwi osób uzależnionych od alkoholu oraz osób zdrowych po konsumpcji alkoholu przekraczającej 60 g/dobę przez minimum 10 dni [7, 17]. Zwłaszcza izoenzym  $\beta$ -HEX B jest uznanym wskaźnikiem nadużywania alkoholu, a w szczególności tzw. *heavy drinking* (regularne picie > 6 porcji alkoholu na dobę) oraz picia szkodliwego [18]. Beta-HEX jest testem bardziej czułym niż GGT w de-

tekcji uzależnienia od alkoholu (czułość  $\beta$ -HEX 70–90%). Podobnie jak CDT,  $\beta$ -HEX ma ograniczoną przydatność w populacji ogólnej, choć jej aktywność (w surowicy, moczu oraz ślinie) może wzrosnąć po jednorazowym okazjonalnym upiciu się dawką alkoholu  $\sim 2$  g/kg (tzw. *binge drinking*) [7, 17]. Zwłaszcza wzrost  $\beta$ -HEX w ślinie stwarza możliwość nieinwazyjnej detekcji nadużywania alkoholu [17]. Po przewlekłym zatruciu aktywność  $\beta$ -HEX w surowicy wraca do normy po 7–10 dniach abstynencji, a w moczu po mniej więcej 4 tygodniach [19]. Mimo dość wysokiej specyficzności ( $\sim 90\%$ ),  $\beta$ -HEX w surowicy może dać fałszywie pozytywne wyniki w nadciśnieniu, cukrzycy, chorobach wątroby (m.in. w cholestazie, marskości), nadczynności tarczycy, ciąży, po przyjmowaniu doustnych leków antykoncepcyjnych, w udarze mózgu oraz zawale serca [7, 20].

### SA i SIJ

Stężenie kwasu sialowego (SA – Sialic Acid) wzrasta w ślinie i surowicy osób uzależnionych od alkoholu oraz w grupie *heavy drinkers* [4, 19, 21]. Kwas sialowy jest czułym markerem o niskiej specyficzności z powodu wzrostu jego stężenia w stanach zapalnych, guzach nowotworowych i przerzutach, cukrzycy, chorobach sercowo-naczyniowych oraz – zależności od wieku, wskaźnika masy ciała, płci i wysokości ciśnienia tętniczego [19]. Marker ten okazał się pomocny w odróżnianiu nadużywania alkoholu od wtórnych efektów chorób wątroby [4]. U osób nadużywających alkoholu okres półtrwania ( $T_{1/2}$ ) SA w surowicy wynosi od 2 do 5 tygodni. Przedłużające się nadużywanie alkoholu (6–8 tygodni), np. w grupie *heavy drinkers*, skutkuje redukcją osoczowego wskaźnika kwasu sialowego apolipoproteiny J (SIJ – plasma sialic acid index of apolipoprotein J) [20]. Dużo większa zawartość reszt kwasu sialowego w apolipoproteinie J w stosunku do zawartości w transferynie może wskazywać na większą przydatność diagnostyczną SIJ [6]. Do wartości prawidłowych SIJ wraca po mniej więcej 8 tygodniach ( $T_{1/2}$  4–5 tygodni) [20].

### Aldehyd octowy, addukty oraz IgA

Aldehyd octowy jest głównym produktem metabolizmu alkoholu etylowego [22]. W ciągu kilku godzin po spożyciu alkoholu aldehyd jest utleniany do kwasu octowego, co ogranicza wykorzystanie go w detekcji nadużywania alkoholu [7]. Łącząc się z białkami krwi (albuminy, hemoglobina), aldehyd tworzy tzw. addukty (ang. acetaldehyde adducts), których okres półtrwania zależy od okresu półtrwania oraz rodzaju białka związanego [23, 24]. Zwiększają się więc znacznie możliwości diagnostyczne, zwłaszcza dzięki wydłużonemu okresowi półtrwania adduktów [25]. Stężenie całkowitego aldehydu związanego z białkami krwi (WBAA – Whole-Blood-Associated Acetaldehyde) wzrasta zarówno w ostrym, jak i w przewlekłym nadużyciu alkoholu, wracając do normy po mniej więcej 3 tygodniach abstynencji [7]. Powstałe addukty z hemoglobina (HAA – Hemoglobin-Associated Acetaldehyde, lub HbA1-AcH) mają większą czułość i specyficzność niż GGT, AST, czy MCV, i jako jedyne korelują z ilością wypitego alkoholu, stwarzając możliwość identyfikacji picia

ryzykownego zanim rozpocznie się proces uszkodzenia wątroby [7]. HAA wzrasta już po jednokrotnym wypiciu dużej dawki alkoholu (~ 2g/kg), kiedy tradycyjne markery (np. GGT, MCV) nie wykazują zmian [26]. Addukty jako wysoce immunogenne nowo powstałe antygeny (tzw. neoantygeny), stymulują odpowiedź immunologiczną, głównie pod postacią wzrostu stężenia immunoglobulin A (IgA) [22, 23]. Poziom IgA w surowicy krwi wzrasta istotnie u osób uzależnionych od alkoholu i w grupie *heavy drinkers*, nie wykazując zmian w grupie pijących umiarkowanie (tzw. *social drinkers*) oraz u pacjentów z niealkoholową chorobą wątroby [7]. Umożliwia to odróżnianie alkoholowej choroby wątroby od niealkoholowej. Opisywany ostatnio wzrost IgA w ślinie, już po jednorazowym okazjonalnym wypiciu dużej dawki alkoholu (~ 2g/kg), stwarza obiecujące możliwości nieinwazyjnej detekcji nadużywania alkoholu [23].

### Nieoksydacyjne metabolity etanolu

Nieoksydacyjny szlak utleniania jest odpowiedzialny za metabolizm etanolu w zaledwie 0,1% [2]. Mimo nieznacznego udziału w metabolizmie produkty estryfikacji etanolu zyskują coraz szersze uznanie w diagnostyce niedawnej konsumpcji alkoholu, głównie ze względu na pośredni okres półtrwania, który mieści się między czasem wykrywania markerów krótkotrwałych (etanol, metanol, aldehyd octowy, HTOL/HIAA) a czasem wykrywania długotrwałych (MCV, GGT, CDT,  $\beta$ -HEX, SA, AA), czyli od 1 do 7 dni [27]. Produktami szlaku nieoksydacyjnego metabolizmu etanolu są estry etylowe kwasów tlenowych organicznych oraz nieorganicznych [2].

Estry etylowe kwasów tłuszczowych (FAEEs – Fatty Acid Ethyl Esters) powstają w wyniku estyfikacji etanolu z wolnymi kwasami tłuszczowymi w narządach najmocniej uszkodzonych przez alkohol (wątroba, trzustka, mózg, mięsień sercowy) [2, 28]. Wykrywalne są w surowicy krwi osób pijących okazjonalnie do 24 godzin od zakończenia konsumpcji, w grupie *heavy drinkers* do 44 godzin, w materiale sekcyjnym do 12 i 24 godzin (odpowiednio dla tkanki tłuszczowej i wątrobowej), a także jako długotrwałe markery nadużywania alkoholu we włosach (do kilku miesięcy od konsumpcji) oraz smółce noworodków [2]. Stężenie FAEEs w surowicy krwi rośnie wraz ze wzrostem stężenia alkoholu [28], będąc jednocześnie istotnie wyższym u osób przewlekłe nadużywających alkoholu niż u osób po krótkotrwałej konsumpcji [2]. Za przewlekłym nadużywaniem alkoholu może świadczyć także większe stężenie estrów kwasu oleinowego niż palmitynowego [2]. Oznaczanie FAEEs we włosach także jest przydatne w potwierdzaniu przewlekłego nadużywania alkoholu, odróżnianiu osób długo nadużywających alkoholu od abstynentów oraz od osób pijących okazjonalnie [29]. Stężenie FAEEs we włosach nie koreluje z wielkością konsumpcji alkoholu, stężeniem etanolu, ani wartościami MCV, GGT oraz CDT [2, 22]. Test FAEEs we włosach wykazuje większą czułość niż tradycyjnie używane MCV, GGT i %CDT. Wykrycie FAEEs w smółce noworodka świadczy o spożywaniu alkoholu przez kobiety ciężarne (przewaga estrów kwasu linolowego oraz palmitynowego), w materiale sekcyjnym świadczy o spożyciu alkoholu przed śmiercią [2, 29].

Glukuronian etylu (EtG – Ethyl Glucuronide) powstaje w wątrobie w wyniku sprzęgania etanolu z kwasem glukuronowym [27]. Estry te wykrywalne są jedynie

u osób spożywających alkohol. Pojawiają się we krwi krótko po konsumpcji nawet niewielkiej ilości alkoholu, w moczu już po umiarkowanym picu [15]. Ilość wypitego alkoholu determinuje długość okresu możliwej detekcji EtG. Glukuronian etylu jest uznawany za najbardziej czuły wskaźnik niedawnej konsumpcji alkoholu i bardziej czuły wskaźnik ostrego zatrucia alkoholem niż sam etanol [2]. Test jest wykorzystywany w USA komercyjnie w programach leczenia uzależnień [2]. Mimo krótkiego  $T_{1/2}$  (2–3 godziny), EtG może być oznaczalny we krwi jeszcze po 36 godzinach od konsumpcji alkoholu, w moczu utrzymuje się nawet do 3–5 dni [2, 4, 6, 15]. EtG jest także wykrywalny w innych tkankach, m.in. we włosach [29].

Fosfatydyloetanol (PEth – Phosphatidyl Ethanol) powstaje z połączenia fosfolipidu z alkoholem etylowym [29]. Wartość progowa alkoholu, po przekroczeniu której PEth pojawia się we krwi, mieści się w granicach 40–50 g/dobę, wypijanych przez prawie 3 tygodnie [2, 29]. Okres półtrwania PEth wynosi około 4 dni, a wynik pozytywny może utrzymywać się we krwi nawet po 2 tygodniach od przewlekłego zatrucia [2, 4]. Zaletą jest wysoka czułość i specyficzność testu, wadą natomiast – duża wrażliwość na przechowywanie z optymalną temperaturą  $-80^{\circ}\text{C}$  [4]. Wykazano również przydatność oceny PEth w materiale sekcyjnym do oceny stanu trzeźwości osoby w chwili zgonu [2].

Estry etylowe kwasu siarkowego (EtS – Ethyl Sulphate) są nowym potencjalnym markerem używania oraz nadużywania alkoholu etylowego [2]. Powstają w wyniku sprzęgania etanolu z aktywnym siarczanem [27]. Siarczan etylu nie jest wykrywalny u osób niepijących [2], pojawia się natomiast w moczu już po jednorazowym spożyciu umiarkowanych ilości alkoholu (9–18 g). Wykrywalny jest w moczu o około 16 do 27 godzin dłużej niż etanol [2, 27].

### Inne biomarkery nadużywania alkoholu

Kwas octowy – jest głównym końcowym produktem oksydacyjnego metabolizmu etanolu, którego oznaczanie próbowano wykorzystać w detekcji nadużywania alkoholu. Przydatność kwasu octowego jako markera niedawnej konsumpcji alkoholu jest jednak ograniczona krótkim okresem półtrwania we krwi oraz brakiem korelacji ze stężeniem etanolu [22].

Metanol – jest składnikiem zanieczyszczającym napoje alkoholowe i w minimalnych ilościach jest tworzony endogennie (w procesach metabolicznych, przez bakterie jelitowe) [29, 30]. Etanol, mając 10-krotnie większe powinowactwo do dehydrogenazy alkoholowej, hamuje oksydację metanolu, prowadząc do jego kumulacji we krwi [30]. Istotnie większy poziom metanolu odnotowano po przewlekłym nadużywaniu alkoholu (diagnostyczny nawet kilkanaście godzin po eliminacji etanolu) oraz u pijanych kierowców [16, 30].

Dolichol – jest transporterem składników cukrowych w procesie glikozylacji białek. Podobnie jak etanol, utleniany jest przez dehydrogenazę alkoholową. Zwiększony poziom dolicholu we krwi i moczu alkoholików, po nadużyciu alkoholu, może być więc wynikiem osłabienia katabolizmu dolicholu przez jednoczasowy wzrost katabolizmu alkoholu [9, 29].

Wskaźnik kwasu  $\alpha$ -amino-n-masłowy/leucyna – charakteryzuje się niewielką czułością i specyficznością [9]. Przewlekła konsumpcja alkoholu zwiększa produkcję kwasu  $\alpha$ -amino-n-masłowego (AANB;  $\alpha$ -amino-n-butyric acid) w wątrobie. Jednoczesne niedożywienie w przebiegu alkoholizmu może obniżyć poziom AANB we krwi. Odniesienie AANB do poziomu leucyny zwiększa czułość testu [9].

Produkty kondensacji aldehydu octowego i kwasu pirogronowego, będąc w nadmiarze (głównie aldehydu octowego), łączą się z obecnymi w organizmie aminami biogennymi (katecholaminami i indoloalkiloaminami), tworząc alkaloidy wywierające silne działanie na czynność ośrodkowego układu nerwowego [9]. Nowo powstałe pochodne dopaminy – tetrahydroizochinoliny (TIQs), np. salsolinol (SAL) i norsalsolinol (Nor-SAL), oraz pochodne tetrahydro- $\beta$ -karboliny (THBCs) odgrywają prawdopodobnie ważną rolę w powstawaniu uzależnienia od alkoholu [29]. Wzrost SAL oraz Nor-SAL w moczu przemawia za uzależnieniem od alkoholu (ich wzrost odnotowano także w płynie mózgowo-rdzeniowym) [9, 31].

Nowy rodzaj badań, zwany proteomiką (ang. proteomics), zaczyna być wykorzystywany w detekcji nadużywania alkoholu i określania potencjalnych markerów w grupie *heavy drinkers* [31]. Zwłaszcza różnice w poziomie fragmentów dwóch białek, fibrynogenu  $\alpha$ E oraz apoproteiny A-II, świadczą o nadużyciu alkoholu [32].

Oprócz powyższych, istnieje jeszcze wiele markerów nadużywania alkoholu, których wartość diagnostyczna nie jest jeszcze wystarczająco poznana, np. aktywność aminopeptydazy alaninowej w moczu, poziom kwasu hialuronowego w surowicy, markery stresu oksydacyjnego indukowanego alkoholem (np. poziom malonyldialdehydu,  $\alpha$ -tokoferolu, osoczowy 8-izoprostan, czy 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna w moczu – tzw. 8-OHdG, 4-hydroksy-2-nonenal – tzw. 4HNE), cytokiny (IL-6, IL-10), kokaetylen (metabolit alkoholu tworzony w obecności kokainy) lub też wzrastające w procesie włóknienia wątroby aminopropeptydy kolagenu [6, 32, 33].

Oprócz markerów nadużywania alkoholu oraz jego niedawnej konsumpcji (tzw. *state markers*), pomocne w diagnostyce uzależnienia od alkoholu są markery podatności na rozwój uzależnienia lub marskości wątroby (tzw. *trait markers*), co wraz z wywiadem rodzinnego obciążenia uzależnieniem może sugerować diagnozę [28]. Za możliwością rozwoju uzależnienia od alkoholu mogą przemawiać: obecność allele A1 receptora D2, obniżona aktywność płytkowej monoamino oksydazy (MAO) oraz adenylowej cyklazy, obniżony poziom GABA i beta endorfin, allele dehydrogenazy alkoholowej (ADH3\*1, ADH2\*2) oraz allele dehydrogenazy aldehydowej ALDH2\*2 [28, 34]; za możliwością rozwoju marskości – HLA antygeny (B8, BW40, B13, A2, DR2, DR3), polimorfizm genu kolagenu  $\alpha$ (I)2, allele ADH3\*1, czy ALDH2\*2 [28].

### Podsumowanie

Ponieważ pacjenci podstawowej opieki zdrowotnej oraz kierowani na leczenie detoksykacyjne i odwykowe zgłaszają się najczęściej w pierwszym tygodniu po zakończeniu picia, coraz większe znaczenie zyskują markery o pośrednim okresie półtrwania (FAEEs, EtG, PEth, EtS), których czas detekcji w płynach biologicznych wynosi od 1 do 7 dni [2]. Czas ich wykrywania mieści się między czasem wykrywania markerów

krótkotrwałych (etanol, aldehyd, metanol, wskaźnik 5-HTOL/5-HIAA) a czasem wykrywania długotrwałych (MCV, GGT, CDT,  $\beta$ -HEX, SA, AA). Mimo coraz większej czułości oraz specyficzności, badania laboratoryjne powinny być nadal częścią procesu diagnostycznego, wraz z wywiadem, badaniem fizykalnym oraz metodami kwestionariuszowymi. Bardziej czule i specyficzne, niż tradycyjnie używane testy, nowe biomarkery dostarczają bardziej obiektywnej informacji o częstości, intensywności, rodzaju i nawrotach picia oraz uszkodzeniach organów w wyniku nadużywania alkoholu. Mogą być pomocne w screeningu oraz medycynie sądowej. Spośród opisanych wyżej biomarkerów, CDT oraz EtG są już komercyjnie stosowane.

### **Биомаркеры злоупотребления'алкоголя. Часть 2. Новые биомаркеры и их интерпретация**

#### **Содержание**

Все более новых биомаркеров злоупотребления алкоголя описано в литературе последних лет. В настоящей работе обсуждены основы биомаркеров, наиболее часто применяемых в исследованиях. К таковым относятся: 5-гидрокситриптофол, этиловые эфиры жирных кислот, глюкорониан этила, фосфатидэтанол, этиловые эфиры серной кислоты, митохондриальный изоэнзим аминотрансферазы аспаргина, малоуглеводные изоформы трансферина, аддукты уксусного адегида, гексозо-амнидаза и сиаловая кислота. Кроме того, в статье описаны иные реже применяемые биомаркеры злоупотребления алкоголя (например уксусный альдегид, уксусная кислота, метанол, альфа-амино-н-масляная кислота, долихол, исследования протеомики). Большая чувствительность и специфичность новых маркеров от традиционных маркеров и широкий временный перерыв возможной детекции обуславливало, что их пригодность как клиническая, как и экспериментальная значительно возрастает.

### **Biomarker zur Messung von Alkoholmissbrauch. Teil 2. Neuartige Biomarker und ihre Interpretation**

#### **Zusammenfassung**

Immer mehr neuartige Biomarker zur Messung von Alkoholmissbrauch werden in der Literatur beschrieben. In der Arbeit wurden die Biomarker besprochen, die am häufigsten angewandt werden (5-Hydroxytryptophol, Fettsäuren-Ethylester, Ethylglukuronid, Phosphatidylethanol, kohlenhydratdefizientes Transferin, Acetaldehyd-Addukten, Beta-Hexoaminidase, Sialsäure) und kurz wurden auch andere seltener angewandte Biomarker zur Messung von Alkoholmissbrauch besprochen (zB. Acetaldehyd, Acetate, Methanol, Alpha-Amino-n-Buttersäure, Dolichol, Proteomix-Studien). Eine größere Empfindlichkeit und Eigentümlichkeit neuartiger Marker gegenüber den traditionellen Markern und eine breite Zeitspanne ihrer möglichen Detektion verursachen, dass ihre klinische und experimentelle Brauchbarkeit steigt.

### **Les biomarqueurs de l'abus de l'alcool. Part II. Les biomarqueurs nouveaux et leur interprétation**

#### **Résumé**

La littérature en question présente le nombre croissant des biomarqueurs nouveaux de l'abus de l'alcool. Cet article décrit les marqueurs usés le plus souvent : 5 -hydroxytryptophol, esters éthyles des acides gras, glucuronide d'éthyle, phosphatidyléthanol, esters éthyle d'acide sulfurique, izoenzyme



mitochondriale d'acide aspartique de l'aminotransferase, glucide déficient de transferrine, produit d'addition d'acétaldéhyde,  $\beta$ -hexosaminidase, et acide sialique ainsi que quelques biomarqueurs usés rarement : acétaldéhyde, acide acétique, méthanol, acide alpha-amino-n-butyrique, dolichol, protéomiques. Leur plus grande sensibilité et leur spécificité causent leur plus grande possibilité de détection de l'abus de l'alcool et leur plus grande utilité clinique et pratique.

### Piśmiennictwo

1. Conigrave KM, Davies P, Haber P, Whitfield JB. *Traditional markers of excessive alcohol use*. *Addict*. 2003; 98, suppl. 2: 31–43.
2. Cylwik B, Chrostek L, Szmitkowski M. *Nonoxidative metabolites of ethanol as a markers of recent alcohol drinking*. *Pol. Merkur. Lek.* 2007; 23: 235–238.
3. Wright NR. *Breath alcohol concentrations in men 7–8 hours after prolonged, heavy drinking: influence of habitual alcohol intake*. *Lancet* 1997; 349: 182.
4. Niemela O. *Biomarkers in alcoholism*. *Clin. Chim. Acta* 2007; 377: 39–49.
5. Neumann T, Spies C. *Use of biomarkers for alcohol use disorders in clinical practice*. *Addic.* 2003; 98, suppl. 2: 81–91.
6. Das SK, Dhanya L, Vasudevan DM. *Biomarkers of alcoholism: an updated review*. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* 2008; 68: 81–92.
7. Sharpe PC. *Biochemical detection and monitoring of alcohol abuse and abstinence*. *Ann. Clin. Biochem.* 2001; 38: 652–664.
8. Macchia T, Mancinelli R, Gentili S, Ceccanti M, Devito R, Attilia ML, Taggi F. *Mitochondrial aspartate aminotransferase isoenzyme: a biochemical marker for the clinical management of alcoholics?* *Clin. Chim. Acta* 1997; 263: 79–96.
9. Musshoff F, Daldrup T. *Determination of biological markers for alcohol abuse*. *J. Chromatogr. B Biomed. Sc. Appl.* 1998; 713: 245–264.
10. Stibler H. *Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed*. *Clin. Chem.* 1991; 37: 2029–2037.
11. Legros FJ, Nuyens V, Minet E, Emonts P, Boudjeltia KZ, Courbe A, Ruelle JL, Colicis J, de L'Escaille F, Henry JP. *Carbohydrate-deficient transferrin isoforms measured by capillary zone electrophoresis for detection of alcohol abuse*. *Clin. Chem.* 2002; 48: 2177–2186.
12. Bortolotti F, de Paoli G, Tagliaro F. *Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as a marker of alcohol abuse: a critical review of the literature 2001-2005*. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sc.* 2006; 841: 96–109.
13. Cylwik B, Chrostek L, Szmitkowski M. *New methods for the determination of transferrin isoforms in the diagnostics of alcohol abuse*. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2006; 60: 101–112.
14. Beck O, Helander A. *5-hydroxytryptophol as a marker for recent alcohol intake*. *Addict*. 2003; 98, suppl. 2: 63–72.
15. Borucki K, Schreiner R, Dierkes J, Jachau K, Krause D, Westphal S, Wurst FM, Luley C, Schmidt-Gayk H. *Detection of recent ethanol intake with new markers: comparison of fatty acid ethyl esters in serum and of ethyl glucuronide and the ratio of 5-hydroxytryptophol to 5-hydroxyindole acetic acid in urine*. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2005; 29: 781–787.
16. Helander A, Eriksson CJ. *Laboratory tests for acute alcohol consumption: results of the WHO/ISBRA Study on State and Trait Markers of Alcohol Use and Dependence*. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2002; 26: 1070–1077.
17. Waszkiewicz N, Szajda SD, Jankowska A, Kepka A, Dobryniewski J, Szulc A, Zwierz K. *The effect of the binge drinking session on the activity of salivary, serum and urinary beta-hexosaminidase: preliminary data*. *Alcohol Alcohol.* 2008; 43: 446–450.

18. Stowell L, Stowell A, Garrett N, Robinson G. *Comparison of serum  $\beta$ -hexosaminidase isoenzyme B activity with serum carbohydrate-deficient transferrin and other markers of alcohol abuse.* Alcohol Alcohol. 1997; 32: 703–714.
19. Allen JP. *Use of biomarkers of heavy drinking in health care practice.* Mil. Med. 2003; 168: 364–367.
20. Javors MA, Johnson BA. *Current status of carbohydrate deficient transferrin, total serum sialic acid, sialic acid index of apolipoprotein J and serum beta-hexosaminidase as markers for alcohol consumption.* Addict. 2003; 98, suppl. 2: 45–50.
21. Chrostek L, Cylwik B, Korcz W, Krawiec A, Koput A, Supronowicz Z, Szmitkowski M. *Serum free sialic acid as a marker of alcohol abuse.* Alcohol. Clin. Exp. Res. 2007; 31: 996–1001.
22. Swift R. *Direct measurement of alcohol and its metabolites.* Addict. 2003; 98, suppl. 2: 73–80.
23. Waszkiewicz N, Szajda SD, Jankowska A, Zwierz P, Czernikiewicz A, Szulc A, Zwierz K. *The effect of acute ethanol intoxication on salivary proteins of innate and adaptive immunity.* Alcohol. Clin. Exp. Res. 2008; 32: 652–656.
24. Hartleb M, Czech E. *Alkoholowa choroba wątroby.* Przegl. Gastroenterol. 2007; 2: 92–100.
25. Hietala J, Koivisto H, Latvala J, Anttila P, Niemela O. *IgAs against acetaldehyde-modified red cell protein as a marker of ethanol consumption in male alcoholic subjects, moderate drinkers, and abstainers.* Alcohol. Clin. Exp. Res. 2006; 30: 1693–1698.
26. Cook JD. *Biochemical markers of alcohol use in pregnant women.* Clin. Biochem. 2003; 36: 9–19.
27. Morini L, Politi L, Zucchella A, Poletini A. *Ethyl glucuronide and ethyl sulphate determination in serum by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry.* Clin. Chim. Acta 2007; 376: 213–219.
28. Laposata M. *Fatty acid ethyl esters: short-term and long-term serum markers of ethanol intake.* Clin. Chem. 1997; 43: 1527–1534.
29. Musshoff F. *Chromatographic methods for the determination of markers of chronic and acute alcohol consumption.* J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sc. 2002; 781: 457–480.
30. Roine RP, Eriksson CJ, Ylikahri R, Penttila A, Salaspuro M. *Methanol as a marker of alcohol abuse.* Alcohol. Clin. Exp. Res. 1989; 13: 172–175.
31. Peterson K. *Biomarkers for alcohol use and abuse: a summary.* Alcohol. Research. Health. 2004/2005; 28: 30–37.
32. Littner Y, Bearer CF. *Detection of alcohol consumption during pregnancy – current and future biomarkers.* Neurosc. Biobehav. Rev. 2007; 31: 261–269.
33. Taracha E, Habrat B, Lehner M, Wisłowska A, Woronowicz BT, Bogulas M, Charewicz J, Markuszewski C, Plaznik A. *Alanine aminopeptidase activity in urine: a new marker of chronic alcohol abuse?* Alcohol. Clin. Exp. Res. 2004; 28: 729–735.
34. Ferguson RA, Goldberg DM. *Genetic markers of alcohol abuse.* Clin. Chim. Acta 1997; 257: 199–250.

Adres: Napoleon Waszkiewicz  
Klinika Psychiatrii  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
16-070 Choroszcz, ul. Brodowicza 1

Otrzymano: 2.10.2008  
Zrecenzowano: 10.12.2008  
Otrzymano po poprawie: 31.07.2009  
Przyjęto do druku: 25.08.2009