

Medische kring 19 maart 2024

Biomarkers voor alcoholgebruik: een overzicht

Apr. A. Brouwers, klinisch bioloog

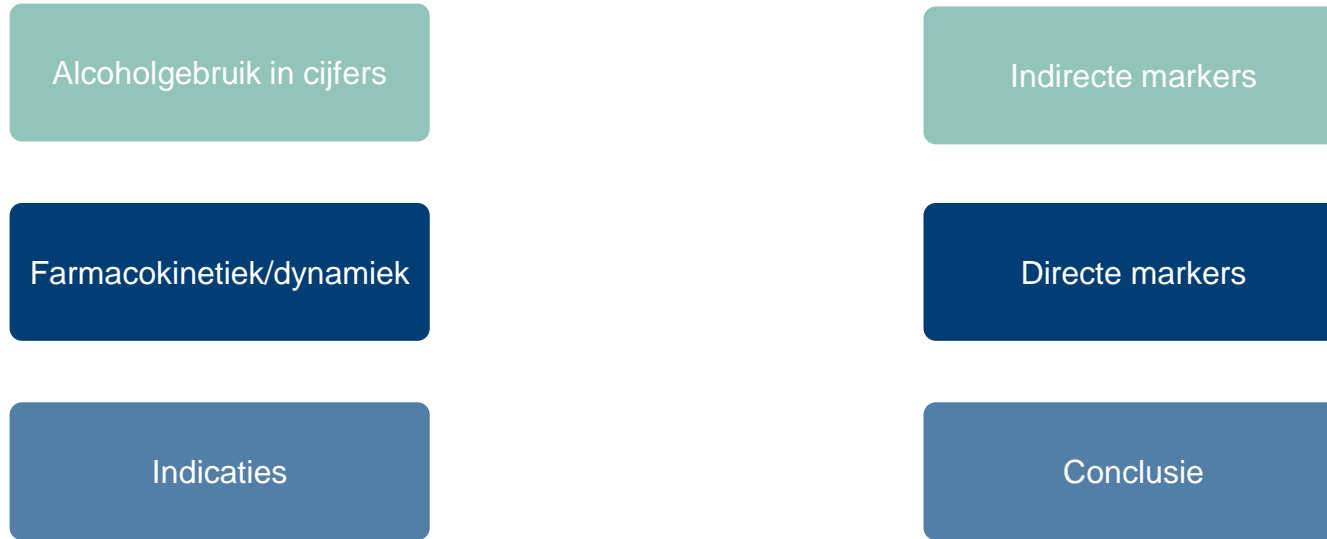


Klinisch
laboratorium





Biomarkers voor alcoholgebruik : een overzicht

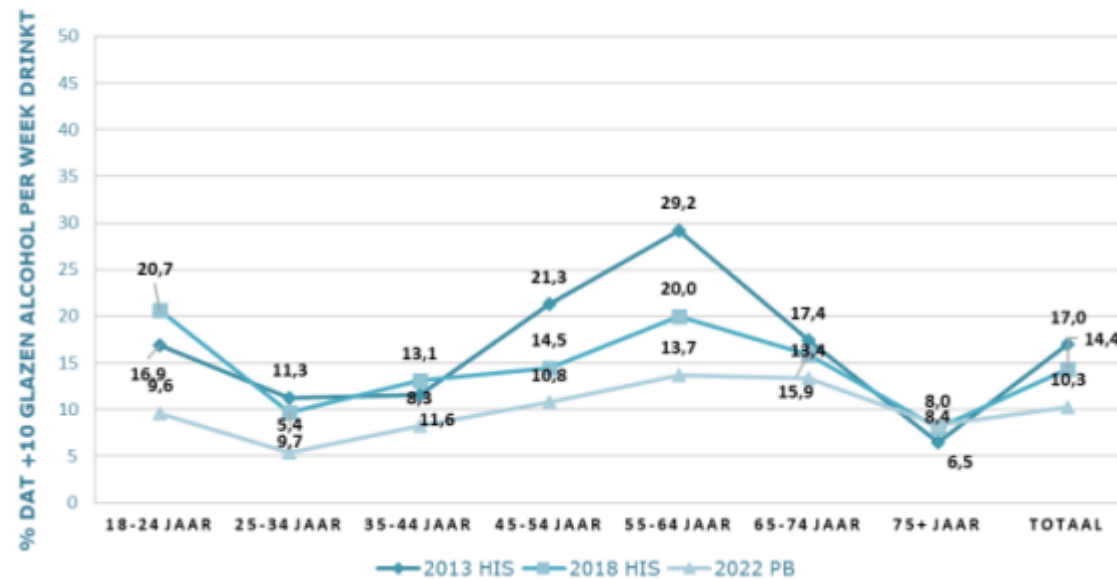




Alcoholgebruik in cijfers

- 84% van de bevolking (18+) dronk alcohol in afgelopen jaar
- 67% van de bevolking drinkt wekelijks alcohol (♂ > ♀) : gemiddeld 9 glazen per week
- 10% vertoont problematisch verbruik

BEVOLKING VAN 18 JAAR OF OUDER DIE MEER DAN 10 GLAZEN ALCOHOL PER WEEK DRINKT (VLAAMS GEWEST)

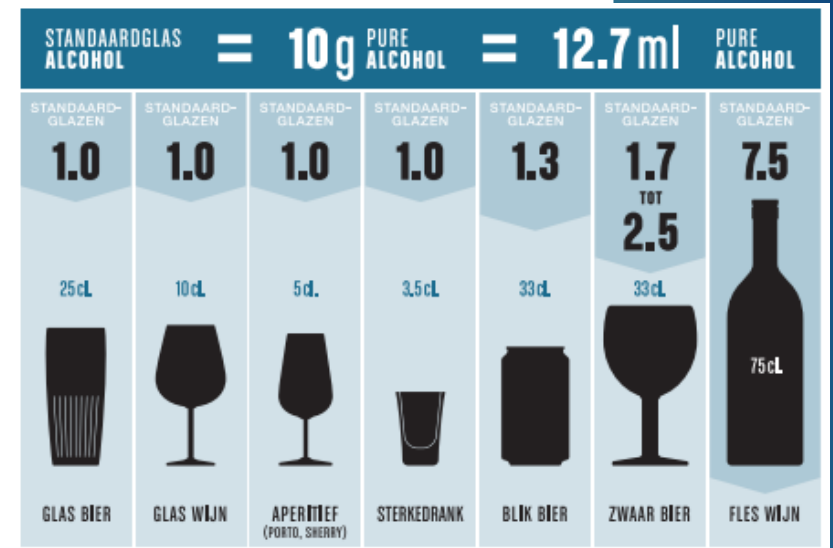


Alcoholgebruik in cijfers

- Definitie problematisch alcoholgebruik
 - ✓ Vlaams expertisecentrum Alcohol en andere drugs (VAD)



- ✓ WHO (2000) : > 60 g per dag voor man, > 40 g per dag voor vrouw
- ✓ recente inzichten : lagere innames reeds schadelijk
- ✓ andere factoren : psychosociaal, obesitas, roken,



VAD, Dossier Alcohol 2018

Farmacokinetiek/dynamiek

• Absorptie

- ✓ binnen het uur
- ✓ thv maag (20%) en dunne darm (80%)
- ✓ snelheid is afhankelijk van

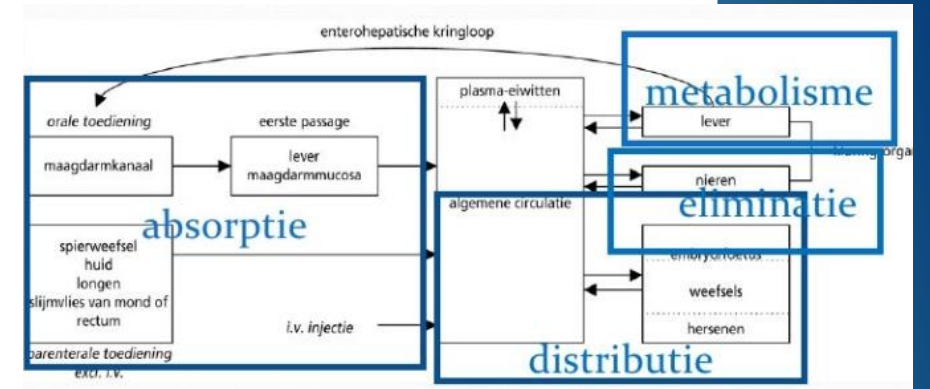
hoeveelheid, alcohol concentratie en snelheid inname
snelheid maaglediging (voedsel, medicatie, roken, gastric bypass, ...)

• Distributie

- ✓ snel door goede wateroplosbaarheid, geen eiwitbinding
- ✓ passage door bloed-hersenbarrière en placenta
- ✓ verdelingsvolume (Vd) : ~ totale hoeveelheid water : $Vd = 0,7 \text{ L/kg}$ voor ♂ en $0,6 \text{ L/kg}$ voor ♀

1 standaardglas (10g), 70 kg

=> alcoholconcentratie in bloed (BAC) van 0,20 g/L bij ♂ en 0,24 g/L bij ♀



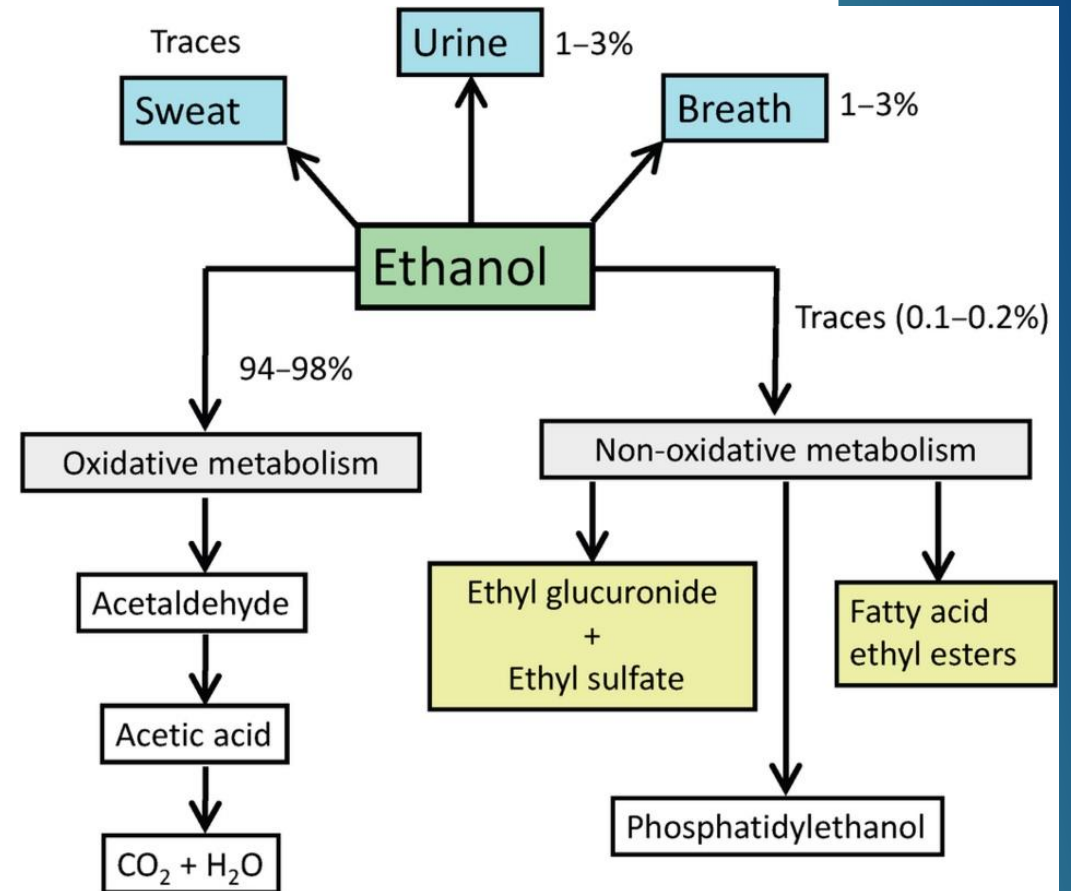
Farmacokinetiek/dynamiek

• Metabolisme

- ✓ 2-6% : onveranderde excretie via urine, adem en zweet
- ✓ 94-98% via oxidatief metabolisme
- ✓ 0,1-0,2% via niet-oxidatief metabolisme = conjugatie met endogene substraten
=> BIOMARKERS

• Eliminatie

- ✓ gemiddeld 0,15 g/L/h





Biomarkers : indicaties

- = noodzaak tot objectivering van alcoholgebruik

ter ondersteuning van anamnese/gestandaardiseerde vragenlijsten

- ✓ diagnose en opvolging alcoholverslaving
- ✓ diagnose van foetaal alcohol syndroom
- ✓ opvolging voor/na levertransplantatie
- ✓ herstelonderzoeken na rijden onder invloed
- ✓ gerechtelijk onderzoek
- ✓





Biomarkers : indirect versus direct

- **Indirecte markers**
= enzymen/cellen die een verandering ondergaan onder invloed van EtOH
 - ✓ MCV
 - ✓ AST/ALT
 - ✓ GGT
 - ✓ CDT
- **Directe markers**
= EtOH zelf of moleculen gevormd na reactie met / metabolisatie van EtOH
 - ✓ EtOH
 - ✓ Ethylglucuronide (EtG) en ethylsulfaat (EtS)
 - ✓ Phosphatidylethanol (PEth)



Indirecte biomarkers

- **MCV = mean cell volume**
 - ✓ ethanol en acetaldehyde hebben toxisch effect op RBC
 - ✓ toename van MCV (> 100 fL, zonder anemie) bij chronische (overmatige) consumptie
 - ✓ normalisatie 2-4 maanden na stop
 - ✓ weinig specifieke merker

BOX 6.1 CAUSES OF MACROCYTOSIS (INCREASED MCV) OTHER THAN ALCOHOL ABUSE

- | | |
|---|-------------------------|
| ■ Vitamin B ₁₂ and folate deficiency | ■ Bone marrow dysplasia |
| ■ Hypothyroidism | ■ Acute leukemia |
| ■ Nonalcoholic liver disease | ■ Aplastic anemia |
| ■ Reticulocytosis | ■ Anorexia nervosa |
| ■ Monoclonal gammopathy | ■ Medications |

Indirecte biomarkers

alcohol heeft een toxisch effect op de lever

=> vrijzetten leverenzymen tgv schade aan de hepatocyt

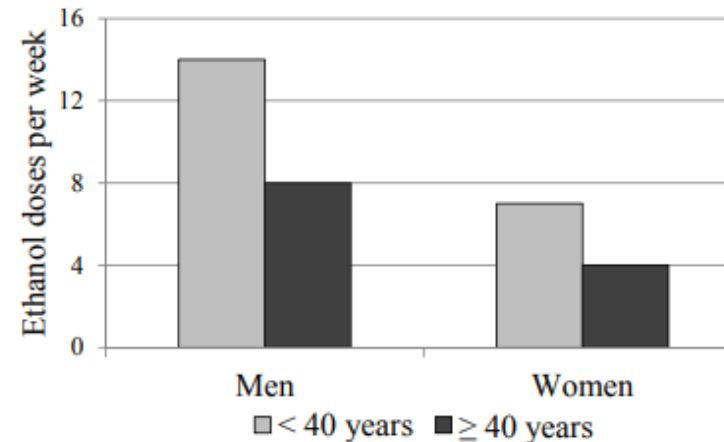
=> toename bij chronische overmatige consumptie

- **AST (SGOT) en ALT (SGPT)**

- ✓ AST in cytosol, ALT in mitochondriën
- ✓ AST/ALT ratio > 2 => leverschade
- ✓ normalisatie 2-4 weken na stop

- **GGT**

- ✓ glycoproteïne op celoppervlak
- ✓ normalisatie 2-6 weken na stop





Biomarkers : indirect versus direct

- **Indirecte markers**

= enzymen/cellen die een verandering ondergaan onder invloed van EtOH

- ✓ MCV
- ✓ AST/ALT = ! weinig specifiek, maar eerste aanwijzing overmatig alcoholgebruik !
- ✓ GGT
- ✓ CDT

- **Directe markers**

= EtOH zelf of moleculen gevormd na reactie met / metabolisatie van EtOH

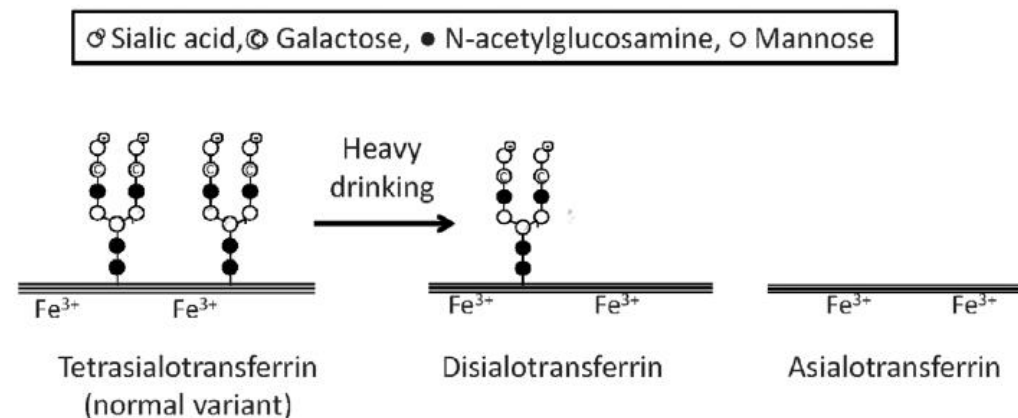
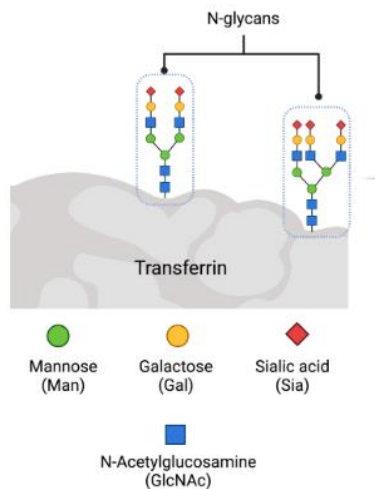
- ✓ EtOH
- ✓ Ethylglucuronide (EtG) en ethylsulfaat (EtS)
- ✓ Phosphatidylethanol (PEth)

Indirecte biomarkers

- **CDT = carbohydrate deficient transferrine**

- ✓ transferrine = transporteiwit voor Fe, bevat 2 koolhydraatketens (glycanen), elke keten kan 0 tot 4 negatief geladen siaalzuurgroepen dragen
- ✓ 9 verschillende isovormen van 0 (asialo-) tot 8 (octasialo-)transferrine
- ✓ ethanol en acetaldehyde verstoren de glycosylatie

=> toename isovormen waarbij 1 of beide glycanen ontbreken





Indirecte biomarkers

- **CDT = carbohydrate deficient transferrine**
 - ✓ in serum
 - ✓ aantoonbaar via verschillende technieken : voorkeur voor HPLC en CZE om genetische varianten en abnormale profielen op te pikken
 - ✓ IFCC standaardisatie : % CDT = asialo + disialo (uitgedrukt als % van totaal transferrine)
 - ✓ cut-off = methode afhankelijk, klinisch (1,3%) versus VIAS (2,4%)



Indirecte biomarkers

- **CDT = carbohydrate deficient transferrine**
 - ✓ lange tijd de meest accurate marker voor chronisch overmatig alcoholgebruik
 - ✓ superieur t.o.v. andere indirecte markers
 - ✓ gevormd bij inname van > 40g ♀- 60g ♂ EtOH per dag gedurende minstens 2 weken
 - ✓ sens. 40-60% => 70-95% bij groter en langduriger gebruik
 - ✓ normalisatie na 2-3 weken na stop (tot 6 weken bij langdurig gebruik) **2-6w**

Table 6.2 Sensitivity and Specificity of Various Alcohol Biomarkers

Biomarker	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)
% Carbohydrate-deficient transferrin (CDT)	2.4%	84	92
γ-Glutamyl transferase (GGT)	30 U/L	64	72
Mean corpuscular volume (MCV)	100 fL	48	52
Alanine aminotransferase (ALT)	35 U/L	32	92
Aspartate aminotransferase (AST)	35 U/L	68	80

Source: Data from Arndt et al. [24].



Indirecte biomarkers

- **CDT = carbohydrate deficient transferrine**
 - ✓ verhoogd CDT = sterk suggestief voor overmatig alcoholgebruik
 - ✓ normale CDT = NIET bewijzend voor abstinentie of afwezigheid problematisch alcoholgebruik
 - ✓ zeer grote interindividuele verschillen
 - ✓ gebrek aan sensitiviteit vb bij matige consumptie of bij binge drinking



Biomarkers : indirect versus direct

- **Indirecte markers**

= **enzymen/cellen die een verandering ondergaan onder invloed van alcohol**

- ✓ MCV
- ✓ AST/ALT
- ✓ GGT
- ✓ CDT

- **Directe markers**

= **ethanol zelf of moleculen gevormd na reactie of metabolisatie in het lichaam**

- ✓ EtOH
- ✓ Ethylglucuronide (EtG) en ethylsulfaat (EtS)
- ✓ Fosfatidylethanol (PEth)



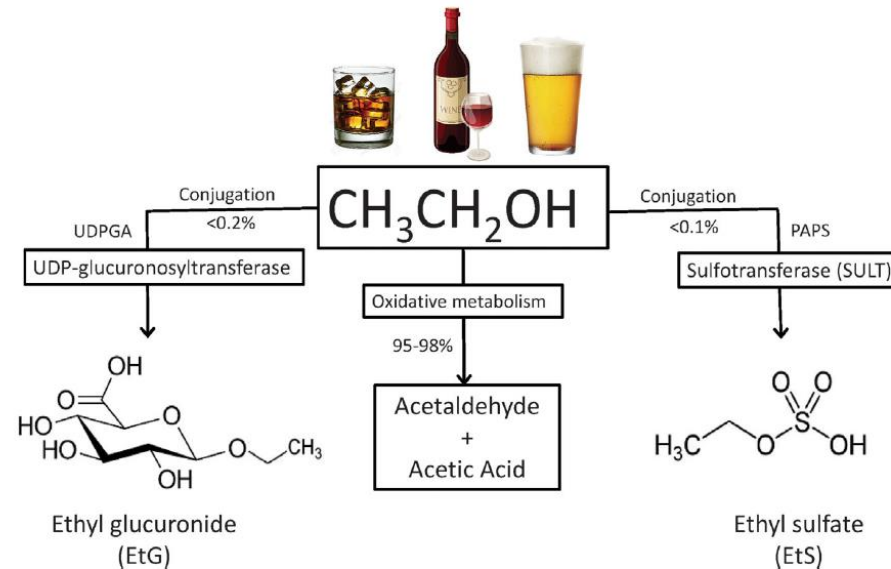
Directe biomarkers

- EtOH

- ✓ detecteerbaar in bloed/urine/uitgeademde lucht/speeksel/zweet
- ✓ analyse in bloed (enzymatisch, GC) = routineparameter aantonen acute intoxicatie
- ✓ een dosis van 0,7g EtOH/kg (bij 70kg : 50 g EtOH = 5 pinten bier) :
piek na 1u (bloed/adem/speeksel) à 2u (urine)
detectietijd ongeveer 8 u (bloed/adem/speeksel) tot 12u (urine)
- ✓ in geval van BAC > 1,5 g/L zonder tekens van intoxicatie
=> toegenomen tolerantie/misbruik

Directe biomarkers

- Ethylglucuronide (EtG) en ethylsulfaat (EtS)
 - ✓ 2 mineure metabolieten
 - ✓ conjugatie met endogeen glucuronzuur of sulfaat



Jones Drug Test Anal. 2023

Directe biomarkers

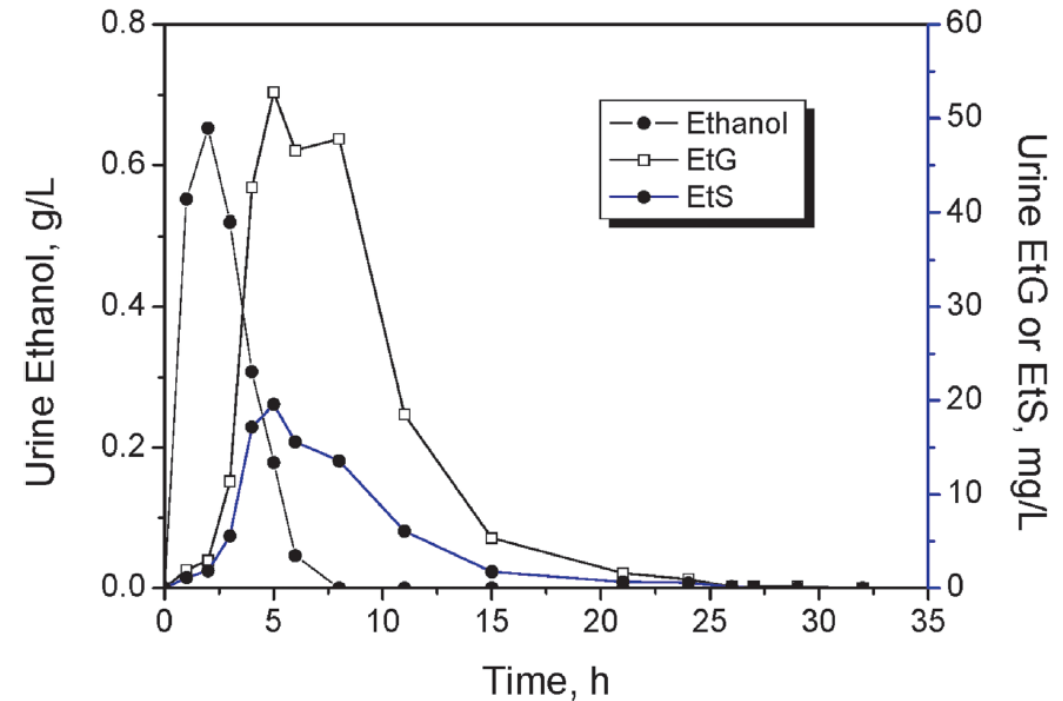
- Ethylglucuronide (EtG) en ethylsulfaat (EtS)

- ✓ veel lagere concentraties dan EtOH zelf, maar veel langer detecteerbaar
- ✓ detectie dmv LC-MSMS
- ✓ detectie in bloed

2x langer dan EtOH

EtG : tot 14u, EtS : tot 12u

- ✓ detectie in urine
3-8x (EtS), 10x (**EtG**) langer dan EtOH
tot 1-3 (5) dagen na alcohol consumptie





Directe biomarkers

- **Ethylglucuronide (EtG) en ethylsulfaat (EtS)**

= marker om abstinentie/gebruik op korte termijn aan te tonen

- ✓ geen onderscheid tussen binge drinking enkele dagen voor afname of beperkte hoeveelheid enkele uren voor afname
- ✓ zeer gevoelig ! CAVE niet intentioneel alcoholgebruik
mondwaters, ontsmettingsoplossingen, grote hoeveelheden alcohol "vrije" dranken (< 0,5%), desserts, sauzen, pralines, rijpe bananen, e-sigaretten, ...
- ✓ CAVE vals-negatieve resultaten : bacteriële contaminatie, concentratie afhankelijk van diurese (steeds + creatinine bepaling)



Directe biomarkers

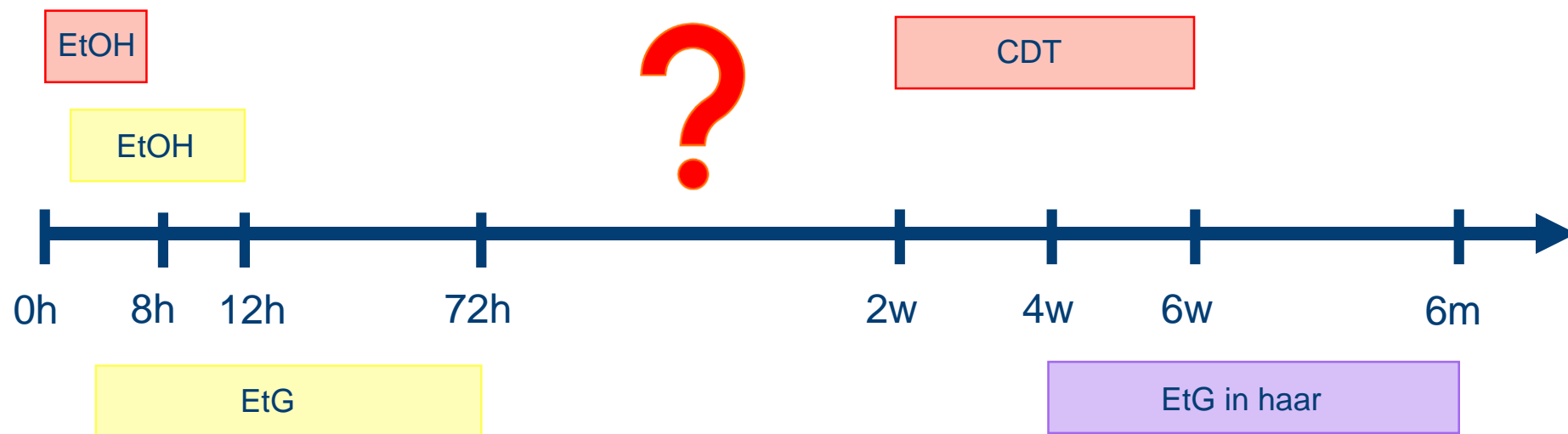
- **Ethylglucuronide (EtG) in haar**

- ✓ incorporatie tijdens haargroei (± 1 cm/maand)
- ✓ proximaal segment 3-6 cm => beeld over gemiddelde consumptie gedurende verschillende maanden
- ✓ specifieke afnametechniek vereist
- ✓ interferentie door haarproducten (H_2O_2)/kleuringen





Directe biomarkers

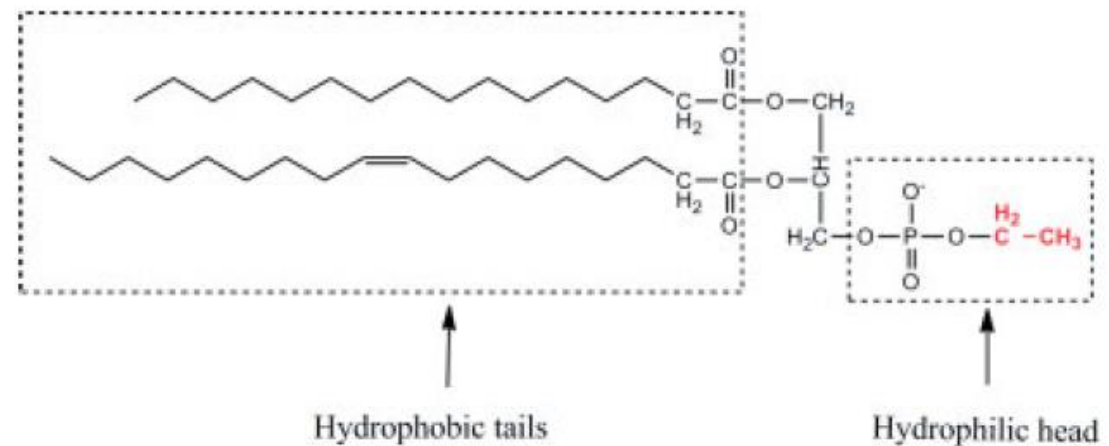


Directe biomarkers

• Phosphatidylethanol (PEth)

- ✓ niet-oxidatieve metaboliet
- ✓ gevormd door reactie van EtOH met phosphatidylcholine in de membraan van verschillende weefsels
- ✓ ENKEL in aanwezigheid van EtOH
- ✓ = groep van fosfolipiden

vnl. phosphatidylethanol 16:0/18:1
= meest abundante vorm





Directe biomarkers

- **Phosphatidylethanol (PEth)**

- ✓ nooit aanwezig bij geheelonthouders
- ✓ accumulatie in bloed en weefsels bij frequent alcoholgebruik
- ✓ T1/2 : 6 (4-10) dagen => alcoholgebruik van de voorbije maand

- ✓ relatie tussen de gemeten concentratie en gemiddeld gebruik in de voorbije maand
- ✓ onderscheid tussen geheelonthouding, sociaal drinken en overmatig gebruik

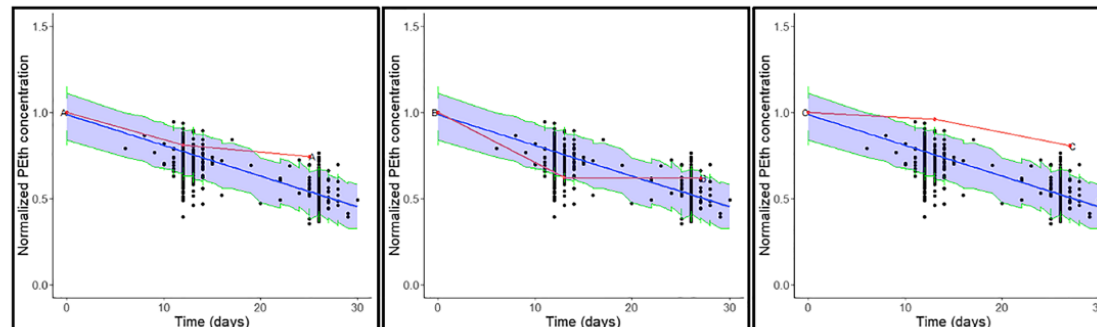
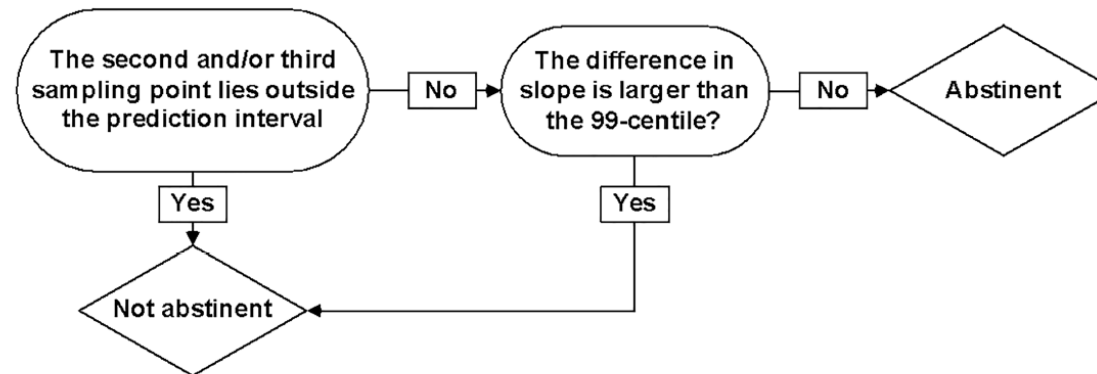
< LLoQ (10 ng/mL)	compatibel met geheelonthouding	150 - 270 ng/mL	sociale drinker, belangrijker alcohol gebruik
10 - 20 ng/mL	compatibel met geheelonthouding of beperkt alcoholgebruik	270 - 500 ng/mL	suggestief voor overmatig alcoholgebruik
20 - 150 ng/mL	sociale drinker	> 500 ng/mL	overmatig alcoholgebruik

Informatiefolder PEth UZ Gent 2020

Directe biomarkers

- Phosphatidylethanol (PEth)

- ✓ zeer hoge sensitiviteit en specificiteit
- ✓ merker voor abstinentie op langere termijn door opvolging in de tijd

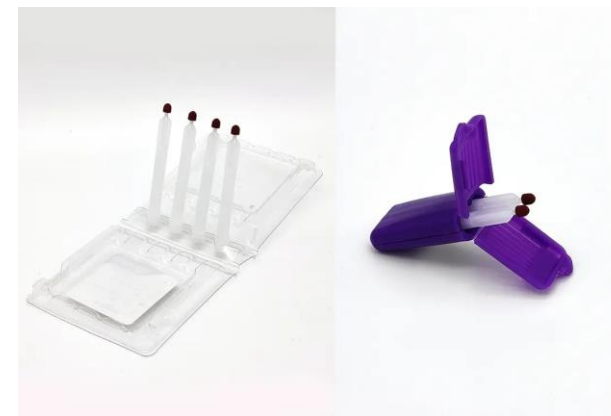




Directe biomarkers

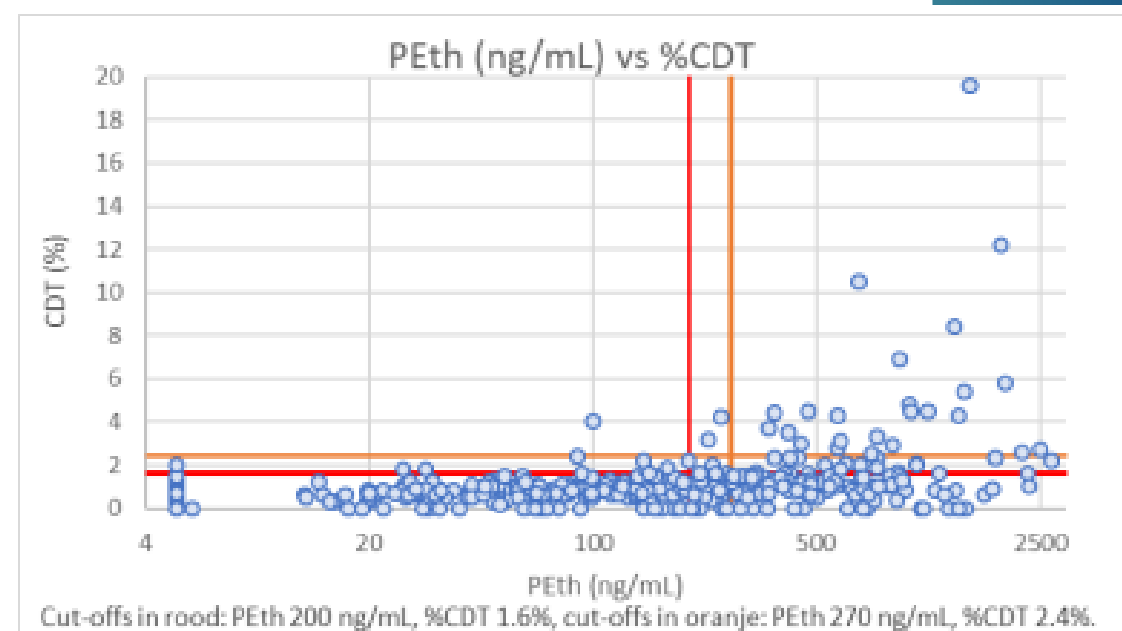
- **Phosphatidylethanol (PEth)**

- ✓ EDTA volbloed of capillaire vingerprik d.m.v. LC-MSMS
- ✓ ! in vitro vorming van PEth (vanaf BAC > 0,1 g/L)
- ✓ ! kostprijs



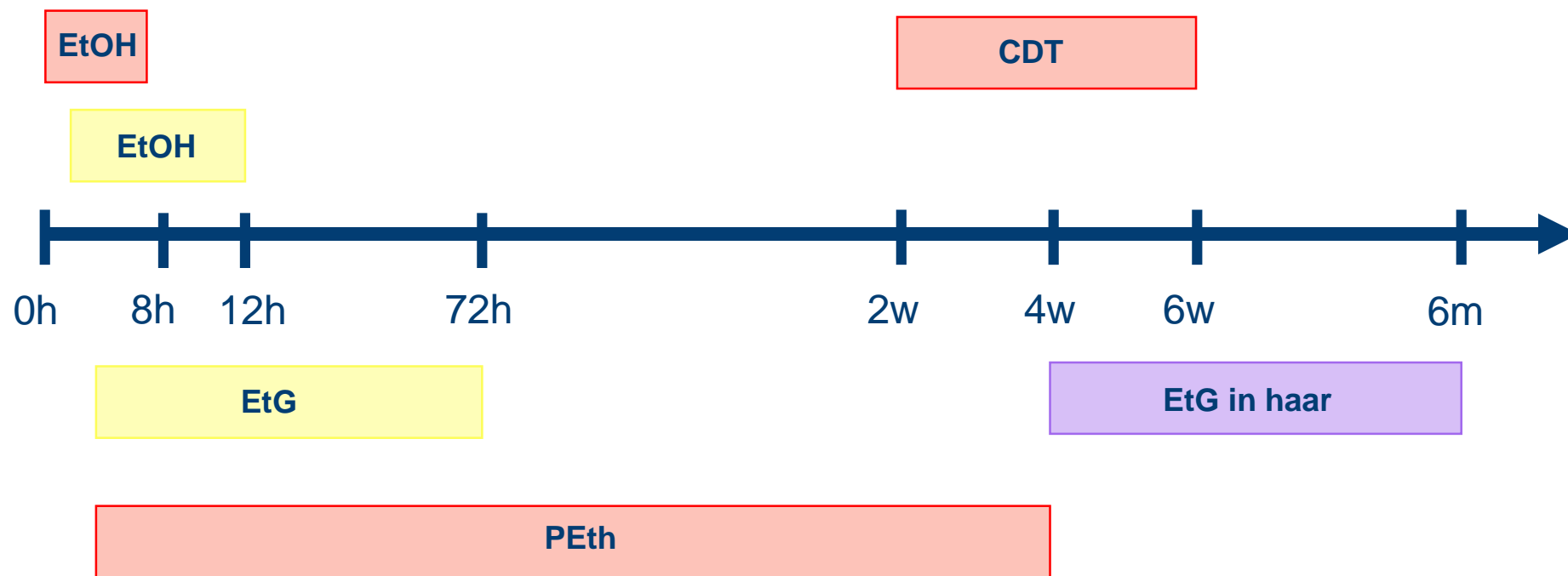
= superieur tov CDT

- ✓ veel gevoeliger dan CDT
- ✓ PEth wordt reeds bij lagere innames gevormd en vormt zich sneller dan CDT





Directe biomarkers





Conclusie

- ✓ indirecte markers MCV, AST/ALT en GGT missen specificiteit
- ✓ voorkeur voor directe markers
- ✓ keuze van de marker is afhankelijk van de termijn
- ✓ combinatie van markers of herhaalde bepalingen kunnen vollediger beeld geven