



Biomarkerji za ugotavljanje uživanja alkohola in njihova klinična uporabnost

Biomarkers for alcohol consumption and their clinical utility

Aria Bragalini¹, Nika Štular¹, Eva Urbanija¹, Filip Velko Veselinov¹, Valentina Wutti¹, Borut Štabuc^{*2}

¹ Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

² Klinični oddelek za gastroenterologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva ulica 2, 1000 Ljubljana

Slovenian Journal of Gastroenterology / Gastroenterolog 2026; 2: 65–75

Ključne besede: alkohol, biomarkerji, fosfatidiletanol, etilglukuronid

Keywords: alcohol, biomarkers, phosphatidylethanol, ethyl glucuronide

IZVLEČEK

Prekomerno uživanje alkohola predstavlja pomemben javnozdravstveni izziv, njegovo prepoznavanje je pogosto oteženo zaradi nezanesljivih ali nepopolnih podatkov v anamnezi. Neposredna biomarkerja fosfatidiletanol (PEth) in etilglukuronid (EtG) omogočata zanesljivejšo oceno uživanja alkohola in dopolnjujeta tradicionalne metode njegovega ugotavljanja. V preglednem članku obravnavamo njune biološke značilnosti, načine določanja, časovna okna zaznavnosti, diagnostično vrednost in dejavnike, ki vplivajo na interpretacijo rezultatov. PEth se določa v krvi in omogoča oceno uživanja alkohola v predhodnih nekaj tednih, medtem ko EtG v urinu zaznava predvsem nedavno uživanje, običajno v zadnjih 24–72 urah. Določanje EtG v lasih in nohtih omogoča retrospektivno oceno uživanja v daljšem, večmesečnem obdobju. Oba biomarkerja sta uporabna pri prepoznavanju škodljivega uživanja alkohola, pri spremljanju abstinence in uspešnosti

ABSTRACT

Excessive alcohol consumption is a major public health problem, and its recognition is often hindered by unreliable information from medical history. The direct biomarkers phosphatidylethanol (PEth) and ethyl glucuronide (EtG) allow a more objective assessment of alcohol consumption and therefore complement traditional methods of detection. In this review, we present their biological characteristics, methods of determination, detection windows, diagnostic value, and the factors that may influence the interpretation of results. PEth is measured in blood and reflects alcohol consumption over the preceding weeks, whereas urinary EtG mainly detects recent drinking, usually within the last 24–72 hours. Determination of EtG in hair and nails allows a retrospective assessment of consumption over a longer period of several months. Both biomarkers are useful for identifying risky and harmful alcohol use and for monitoring abstinence and treatment

*prof. dr. Borut Štabuc, dr. med.

Klinični oddelek za gastroenterologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva ulica 2, 1000 Ljubljana
E-pošta: borut.stabuc@gmail.com

zdravljenja. Njena uporaba je posebej koristna, kadar anamneza ne odraža zanesljivo dejanskega vzorca uživanja alkohola. Kljub veliki diagnostični natančnosti je treba izmerjene vrednosti presojati ob upoštevanju časovnega okna zaznavnosti, mejnih koncentracij, postopka odvzema vzorca in drugih dejavnikov, ki lahko vplivajo na meritve. Biomarkerji ne omogočajo vedno natančne ocene količine zaužitega alkohola in ne nadomeščajo anamneze ali celostne klinične ocene, temveč ju dopolnjujejo. Njihova premišljena uporaba lahko prispeva k zgodnejšemu prepoznavanju škodljivega uživanja alkohola in ustrežnejši obravnavi bolnikov.

outcomes. Their use is particularly valuable when the medical history does not reliably reflect the actual pattern of consumption. Despite their high diagnostic value, results must be interpreted with regard to the detection window, cut-off values, sampling method, and other factors that may affect the measurements. Biomarkers do not always allow an accurate estimate of the amount of alcohol consumed and do not replace the medical history or comprehensive clinical assessment, but complement them. Their considered use can contribute to earlier recognition of harmful alcohol use and more appropriate patient management.

UVOD

Prekomerno uživanje alkohola predstavlja pomemben dejavnik tveganja za razvoj srčnožilnih, jetrnih, malignih in nevroloških bolezni. Zaradi pomembnega vpliva na višjo obolevnost, višjo stopnjo invalidnosti in umrljivosti je prekomerno uživanje alkohola eden glavnih javnozdravstvenih izzivov. Za ustrezno obravnavo bolnika je zato ključnega pomena, da čim bolje ocenimo njihove vzorce uživanja alkohola. Objektivna ocena uživanja alkohola je pomembna ne le pri klinični obravnavi bolnikov, temveč tudi v sodnomedicinskih postopkih, kjer ima lahko prekomerno uživanje alkohola pravne posledice [1].

V klinični praksi zdravnik večinoma presoja stopnjo uživanja alkohola pri bolniku na podlagi dejstev, pridobljenih z anamnezo ali heteroanamnezo. Zanesljivost tako pridobljenih podatkov je omejena, saj so bolniki pri poročanju o količini zaužitega alkohola in pogostosti uživanja alkohola nemalokrat neiskreni. To ima neposreden vpliv na načrtovanje bolnikove obravnave in s tem na bolnikovo prognozo [2, 3, 4]. Zato se v klinični praksi danes vse pogosteje uporabljajo biomarkerji, ki omogočajo objektivnejšo oceno uživanja alkohola. Biomarkerji so fiziološki kazalci izpostavljenosti alkoholu in so tako ključnega pomena za objekti-

vno odkrivanje in spremljanje prekomernega uživanja alkohola [5, 6].

Namen tega preglednega članka je predstaviti fosfatidiletanol in etilglukuronid kot neposredna biomarkerja uživanja alkohola in poudariti njune biološke značilnosti, časovno okno zaznavnosti, občutljivost in specifičnost ter dejavnikov, ki vplivajo na interpretacijo rezultatov. Poleg tega pa je namen izpostaviti njuno uporabnost v klinični praksi pri objektivni prepoznavi in zgodnjem odkrivanju škodljivega uživanja alkohola.

BIOMARKERJI ZA DOKAZOVANJE UŽIVANJA ALKOHOLA

Večina zaužitega alkohola (90–98 %) se s pomočjo alkoholne dehidrogenaze v jetrih presnovi v acetaldehid, ki je toksični metabolit alkohola, ta pa s pomočjo aldehid dehidrogenaze pretvori v acetat. 2–8 % se ga izloči nespremenjenega v izdihanem zraku in urinu. Približno 1,5 % alkohola pa se presnavlja po neoksidativni presnovni poti, kjer nastajajo etilglukuronid (angl. *β -D-ethyl glucuronide*, EtG), etilsulfat (angl. *ethyl sulphate*, EtS), etilfosfat (angl. *ethyl phosphate*, EtP), fosfatidiletanol (angl. *phosphatidylethanol*, PEth) in etilni estri maščobnih kislin (angl. *fatty acid ethyl esters*, FAE) [7].

Nedavno uživanje alkohola lahko zaznamo v izdihanem zraku, z meritvijo koncentracije alkohola v krvi ali z neposrednimi biomarkerji za dokazovanje uživanja alkohola v krvi in urinu [5, 6]. V preteklosti so se za dokazovanje uživanja alkohola uporabljali predvsem posredni biomarkerji, ki ne merijo količine zaužitega alkohola ali njihovih metabolitov neposredno, temveč odražajo njegove fiziološke učinke na organe, predvsem jetra in druge biokemične procese v telesu. Med posredne biomarkerje spadajo gama-glutamilttransferaza (GGT), aspartat-aminotransferaza (AST), alanin-aminotransferaza (ALT), povprečni volumen eritrocitov (angl. *mean corpuscular volume*, MCV) in transferin s pomanjkanjem ogljikovih hidratov (angl. *carbohydrate-deficient transferrin*, CDT) [8].

Ti biomarkerji so uporabni za prepoznavanje oseb, ki dolgotrajno prekomerno uživajo alkohol, njihova občutljivost za prepoznavo oseb, ki zmerno uživajo alkohol, pa je omejena [9]. Prednost neposrednih biomarkerjev je v tem, da nastajajo le ob prisotnosti alkohola v organizmu, zato je zanje značilna manjša pogostost lažno pozitivnih rezultatov, ki zmanjšuje zanesljivost posrednih biomarkerjev. Poleg tega pa prepoznajo tudi zgolj občasno prekomerno uživanje alkohola. Med neposredne biomarkerje uživanja alkohola spadata PEth in EtG [8].

Fosfatidiletanol

PEth je atipičen fosfolipid, ki nastaja iz fosfatidilholina (angl. *phosphatidylcholine*, PC) v prisotnosti etanola. Encim fosfolipaza D (angl. *phospholipase D*, PLD) običajno katalizira hidrolizo PC, pri čemer nastane fosfatidna kislina. Ob prisotnosti etanola katalizira reakcijo transfosfatidilacije, pri kateri etanol sprejme fosfatidilno skupino in nastane fosfatidiletanol [10]. Opisanih je več kot 40 različnih oblik PEth, med katerimi je najpogostejši in klinično najpomembnejši PEth 16:0/18:1. Vgrajuje se v membrane eritrocitov in se ob nadaljnjem uživanju alkohola v njih postopoma kopiči. Iz telesa se izloča počasi, njegov razpolovni čas je dvofazen in znaša približno 3–10

dni. Glede na količino in vzorec uživanja alkohola je lahko PEth v krvi zaznaven še do 4 tedne po prenehanju pitja, zato omogoča oceno uživanja alkohola v daljšem časovnem obdobju [9].

Določanje fosfatidil etanola v krvi

PEth se določa v polni krvi, odvzeti v epruveto z antikoagulantom etilendiamintetraocetno kislino (angl. *ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA) ali v vzorcih posušene krvi na filtrirnem papirju (angl. *dried blood spot*, DBS). Pred analizo se iz vzorca z uporabo organskih topil ekstrahira PEth, pri čemer se kot notranji standard uporablja devterirana spojina. Analiza najpogosteje poteka s tekočinsko kromatografijo s tandemsko masno spektrometrijo (angl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MS/MS). PEth se z ultravisokotlačno tekočinsko kromatografijo loči od drugih komponent vzorca na koloni s stacionarno fazo C₁₈. Pri tem se uporablja ionizacija z elektrorazprševanjem v negativnem načinu, za določanje EtG pa metoda spremljanja izbranih reakcij [11]. Najpogosteje določeni homolog je PEth 16:0/18:1, ki ima najdaljšo razpolovno dobo in je pogosto edini homolog PEth, ki ga v klinični praksi določamo [12].

Prednosti in slabosti določanja fosfatidil etanola v krvi

Prednosti PEth pred drugimi posrednimi biomarkerji za ugotavljanje uživanja alkohola so predvsem njegova visoka specifičnost (> 90 %) in občutljivost (> 88 %), daljše obdobje zaznavnosti in objektivnost rezultata. PEth nastaja v prisotnosti etanola, zato je bolj neposredno povezan z uživanjem alkohola kot omenjeni posredni biomarkerji. Pomembna prednost je tudi ta, da jetrna bolezen ne vpliva na njegovo koncentracijo v krvi. Zaradi njegove visoke občutljivosti lahko zlasti pri ponavljajočem in prekomernem uživanju zaznamo nižje koncentracije, ki jih z določanjem drugih biomarkerjev ne bi mogli zaznati. Njegova dodatna prednost je tudi daljše obdobje zaznavnosti. Etanol se iz krvi izplavi

precej hitro, medtem ko PEth ostane v krvi zaznaven še več tednov po prenehanju uživanja. Z merjenjem PEth v krvi dobimo objektiven rezultat, ki ni odvisen od bolnikovega priklica in pripravljenosti, da bi priznal uživanje alkohola [9, 13, 14].

Kljub številnim prednostim ima PEth tudi nekatere omejitve, ki jih je treba upoštevati pri interpretaciji rezultatov PEth iz krvi. Na podlagi njegove koncentracije ni mogoče popolnoma natančno določiti zaužite količine alkohola, saj se povezuje med izmerjeno koncentracijo in količino zaužitega alkohola pri posameznikih precej razlikuje. Zaradi njegovega dolgega časovnega okna zaznavnosti na podlagi izmerjene vrednosti ni mogoče natančno določiti časa zaužitja alkohola. Kljub visoki občutljivosti lahko občasno uživanje manjših količin alkohola ostane pod mejo zaznavnosti, zato je možen lažno negativen rezultat. Ker PEth nastaja v membranah eritrocitov, lahko hemoliza povzroči nižje izmerjene vrednosti tega biomarkerja, nedavna transfuzija krvi pa lažno višje vrednosti tudi pri tistih osebah, ki alkohola niso uživale. Na interpretacijo rezultatov vpliva tudi variabilna razpolovna doba PEth, saj se njegova koncentracija pri različnih posameznikih zmanjšuje z različno hitrostjo. Ena od omejitev določanja PEth je tudi potreba po odvzemu krvi, ki je za razliko od odvzema urina, las ali nohtov bolj invaziven in za nekatere bolnike neprijeten poseg. Dodatno omejitev predstavljata dostopnost in cena analize, ki zahteva specializirane laboratorijske metode [9, 13, 14]. PEth torej predstavlja zelo zanesljiv biomarker prekomernega uživanja alkohola, če izmerjene rezultate pravilno interpretiramo ter ob tem upoštevamo tudi klinično oceno in druge metode za ocenjevanje vnosa alkohola [12].

Etilglukoronid

Etilglukuronid (EtG) je majhna, nehlapna, vodotopna molekula, ki je bila prvič odkrita leta 1993 v laseh [15]. Je neposredni metabolit etanola, ki nastane v jetrih z encimsko konjugacijo etanola z glukuronsko kislino, kar katalizira z membrano

mitohondrijev povezana UDP-glukuronoziltransferaza. Z urinom se izloči zelo majhen delež zaužitega etanola (<1 %) v obliki EtG in EtS. Ta dva metabolita je mogoče zaznati v različnih telesnih tekočinah in tkivih še dolgo po tem, ko je bil alkohol že izplavljen iz telesa. EtG se v praksi najpogosteje določa v urinu, vendar ga je mogoče določati tudi v polni krvi, kjer je zaznaven že v manj kot 45 minutah po zaužitju alkohola in vse do 36 ur, v serumu, laseh in nohtih [16, 17, 18]. V krvi in urinu je primeren za zaznavanje alkohola v kratkem časovnem obdobju po zaužitju. V keratinskih tkivih, kot so lasje in nohti, pa omogoča dolgotrajnejše spremljanje [19].

Določanje etilglukoronida v urinu

EtG v urinu (uEtG) je polarna, vodotopna spojina, zato je za njegovo analizo potrebna ustrezna priprava vzorca, ki zmanjša vpliv drugih sestavin urina na rezultat meritve [20, 21, 22]. Za učinkovito čiščenje vzorcev se lahko uporablja ekstrakcija na trdni fazi, redčenje vzorca in obarjanje beljakovin z organskimi topili, izbira postopka pa je odvisna od analitiške metode in zahtevane občutljivosti [23, 24, 25]. Alternativen pristop je analiza posušenih madežev urina na filtrirnem papirju (angl. *dried urine spot*, DUS), pri kateri se analit ekstrahira z metanolom ob uporabi ultrazvočne obdelave [20, 26]. Za določanje uEtG se v klinični praksi najpogosteje uporabljata LC-MS in LC-MS/MS, ki omogočata zanesljivo identifikacijo in kvantifikacijo ter sta primerni tudi za sodnomedicinske preiskave. Imunokemijski testi (angl. *enzyme immunoassay*, EIA), ki se uporabljajo predvsem za presejalno testiranje, lahko zaradi navzkrižne reaktivnosti z drugimi snovmi dajejo lažno pozitivne rezultate, zato je treba začetne pozitivne rezultate, ki so zgolj orientacijski, potrditi s kromatografsko metodo. Vzorce je potrebno čim hitreje dostaviti v laboratorij, do takrat pa jih je potrebno hraniti v hladilniku [16].

Časovno okno zaznavanja je odvisno od uporabljene mejne vrednosti in količine zaužitega alkohola [27]. uETG omogoča zaznavanje uživanja alkohola še več

ur do nekaj dni po tem, ko etanola v izdihanem zraku, krvi ali urinu ni več mogoče zaznati. V kontroliranih kliničnih študijah je običajno obdobje zaznavanja v urinu približno 24–72 ur, pri čemer se lahko po večjem zaužitju alkohola in ob uporabi nižjih mejnih vrednosti podaljša [28, 29, 30].

Prednosti in slabosti določanja etilglukoronida v urinu

uEtG je visoko občutljiv in specifičen biomarker za ugotavljanje nedavnega uživanja alkohola [31]. Zaradi enostavnega in neinvazivnega odvzema vzorca ter podaljšanega časovnega okna zaznavnosti v primerjavi z etanolom se pogosto uporablja za spremljanje uživanja alkohola in odkrivanje ponovnega uživanja po obdobju abstinence. Zaradi visoke občutljivosti omogoča zaznavanje že manjših količin zaužitega alkohola [32]. Prednost uEtG je v tem, da je tudi pri bolnikih z jetrnimi boleznimi občutljiv in specifičen kazalec zaznavanja zaužitega alkohola v obdobju zadnjih treh dni, ne glede na stopnjo resnosti jetrne bolezni [33].

Pomembna omejitev določanja uEtG je izbira mejne vrednosti, ki vpliva na občutljivost in specifičnost testa. Nižje mejne vrednosti omogočajo zaznavanje manjših količin zaužitega alkohola in podaljšajo obdobje zaznavanja, vendar lahko povečajo tveganje za lažno pozitivne rezultate. Nasprotno pa višje mejne vrednosti povečajo specifičnost, vendar lahko povzročijo, da manjše količine zaužitega alkohola ostanejo nezaznane. Občutljivost testa se zmanjšuje tudi z daljšanjem časa od zaužitega alkohola, zato negativen rezultat ne izključuje predhodnega uživanja [27, 34].

Mejna koncentracija EtG 100 ng/mL najverjetneje omogoča najboljše zaznavanje intenzivnega uživanja alkohola v obdobju zadnjih petih dni. V okoliščinah, kjer je nujno, da bi čim bolj zmanjšali število lažno pozitivnih rezultatov (npr. v sodno-medicinskih postopkih), se priporoča uporaba mejnih koncentracij 200 ng/mL ali več. V kliničnem in raziskovalnem okolju se za čim boljše zaznava-

nje intenzivnega uživanja alkohola priporoča mejna koncentracija 100 ng/mL [27].

Na podlagi koncentracij EtG v urinu prav tako ni mogoče razlikovati med epizodo intenzivnega uživanja alkohola v zadnjih nekaj dneh in majhnim vnosom alkohola nekaj ur pred odvzemom vzorca. V posameznih primerih so bili rezultati uEtG pozitivni tudi po uporabi ustnih vodíc, ki vsebujejo etanol, in visoko koncentriranih razkužil na osnovi etanola. Prav tako lahko zaužitje večjih količin brezalkoholnega piva povzroči pozitivne rezultate uEtG in EtS v urinu do 20 ur po zaužitju. Bolnike je zato pred testiranjem potrebno opozoriti na te možnosti in jih o teh stvareh tudi povprašati [16].

Pomembna omejitev je tudi ta, da je koncentracija EtG v urinu odvisna od diureze, zato lahko zaužitje večjih količin vode povzroči izrazito znižanje njegove koncentracije v urinu, kar lahko vodi do lažno negativnih rezultatov [16].

Določanje etilglukoronida v lasih

Določanje EtG v lasih (hEtG) običajno vključuje odvzem vzorca las z zadnjega zgornjega dela lasišča, pri čemer se najpogosteje analizira proksimalni tricentimetrski segment, ki približno odraža trimesečno obdobje rasti lasu. Za analizo se navadno uporabi 15–200 mg las [19]. Odvzeti vzorec se sprva opere, da se odstranijo zunanji kontaminanti, nato posuši in razreže na krajše segmente (0,1–0,3 cm) ali homogenizira z mletjem. EtG se nato ekstrahira, najpogosteje z destilirano vodo ob inkubaciji in/ali ultrazvočni obdelavi. Kot notranji standard se uporablja izotopsko označeni EtG. Kvantifikacija poteka z LC-MS/MS ali plinsko kromatografijo s tandemsko masno spektrometrijo (angl. *gas chromatography-tandem mass spectrometry*, GC-MS/MS). Rezultati se izražajo v pg/mg las [15].

Čeprav so osnovni koraki analize primerljivi, se laboratorijski protokoli razlikujejo glede postopkov pranja, homogenizacije, ekstrakcije in izbire analitske metode [19].

Po priporočilih mednarodnega strokovnega združenja za analizo drog in drugih substanc v človeških lasih (*Society of Hair Testing*, SoHT) koncentracija hEtG pod 5 pg/mg ne kaže na čezmerno uživanje alkohola, vrednosti med 5 in 30 pg/mg pa lahko kažejo na ponavljajoče se uživanje alkohola. Koncentracija nad 30 pg/mg močno podpira sum na kronično čezmerno uživanje alkohola. Pri posameznikih s pomembnimi sočasnimi boleznimi je potrebna previdnost, saj je lahko interpretacija teh mejnih vrednosti manj zanesljiva [19].

Prednosti in slabosti določanja etilglukoronida v lasih

Pomembna prednost hEtG je dolgo obdobje zaznavnosti, ki po aktualnih priporočilih SoHT omogoča zanesljivo kvantifikacijo za obdobje približno šestih mesecev. Poleg tega je odvzem vzorca neinvaziven, shranjevanje preprosto, rezultati pa niso odvisni od starosti, spola, indeksa telesne mase (ITM) ali naravne barve las, kar omogoča zanesljivejšo vrednotenje uživanja alkohola pri posameznikih z različnimi demografskimi in telesnimi lastnostmi [15]. hEtG ima visoko občutljivost (85 %) in specifičnost (97 %) pri zaznavanju čezmernega uživanja alkohola, tj. več kot 60 g alkohola na dan, ob upoštevanju mejne vrednosti 30 pg/mg v proksimalnem tricentimetrskem odseku las [15].

Kljub visoki specifičnosti ima določanje hEtG tudi nekaj omejitev, ki so v glavnem povezane s pomanjkanjem standardnih laboratorijskih postopkov, saj se metode pranja, mletja in ekstrakcije vzorcev med laboratoriji razlikujejo. To lahko vpliva na primerljivost rezultatov. Na izmerjeno koncentracijo vplivajo tudi predanalitski dejavniki, kot so postopek dekontaminacije, homogenizacija vzorca, uporabljeno ekstrakcijsko topilo in temperatura. Interpretacijo dodatno otežujejo različne mejne vrednosti, ki vodijo do lažno pozitivnih ali lažno negativnih rezultatov. Pomembno vlogo pri interpretaciji imajo tudi individualne lastnosti, kot so splošno zdravstveno stanje, zlasti ledvična bole-

zen, jetrna ciroza in sladkorna bolezen ter uporaba kozmetičnih izdelkov za lase, saj lahko vplivajo na izmerjeno vrednost. Zato je treba pri interpretaciji rezultatov upoštevati klinično stanja posameznika in podatke o morebitni obdelavi las [19]. Dolgotrajna izpostavljenost las parfumu na alkoholni osnovi lahko poveča koncentracijo hEtG in tako privede do lažno pozitivnih rezultatov [35]. Na rezultat lahko vpliva tudi dolgotrajen stik z vodo, zlasti pri plavanju v bazenih ali pogostem kopanju v kadi. Prav tako je pomembna pomanjkljivost, da negativen rezultat ne izključuje občasnega uživanja manjših količin alkohola, saj je občutljivost metode v tem primeru omejena. Rezultate je smiselno interpretirati v kombinaciji s kliničnimi podatki in določanjem drugih biomarkerjev, predvsem skupaj s PEth [15]. Raziskave so pokazale, da so njegove koncentracije višje v serumu kot v polni krvi. Zato je pri interpretaciji pomembno upoštevati tudi biološki vzorec uporabljen za analizo [18].

Določanje etilglukoronida v nohtih

EtG se v noht vgrajuje prek krvnega obtoka v predelu nohtne matice in nohtne posteljice pod nohtom. Odvzem vzorca nohtnega tkiva je neinvaziven postopek, vzorec pa je lažje pridobiti kot kri ali urin [36]. Tako kot pri analizi las je tudi za analizo nohtov potrebna le majhna količina vzorca, ki ga je mogoče hraniti pri sobni temperaturi [37]. Vzorec nohta pridobimo z odrezom njegovega distalnega dela. Priprava vzorcev za določanje EtG vključuje dekontaminacijo, sušenje, mletje, ekstrakcijo analita in čiščenje ekstrakta. EtG se določa z metodo LC-MS/MS in GC-MS/MS. Pri slednji je lahko pogosto potrebna derivatizacija, ki izboljša analitsko občutljivost [38, 39].

Povezava med koncentracijo EtG v nohtnem tkivu (nEtG) in vzorci uživanja alkohola kaže, da je analiza nohtov uporabna za ocenjevanje uživanja alkohola v daljšem časovnem obdobju. Časovno okno zaznavanja nEtG je približno 3–6 mesecev in je odvisno od hitrosti rasti nohta in dolžine analiziranega vzorca [36].

Koncentracija nEtG ima višjo občutljivost pri posameznikih s pogostejšim uživanjem alkohola kot pri tistih z nizko do zmerno stopnjo uživanja alkohola [40].

Mejne vrednosti za EtG še niso standardizirane. Cappelle idr. so predlagali preliminarne mejne vrednosti, pri čemer koncentracija nad 123 pg/mg kaže na kronično prekomerno uživanje alkohola, vrednosti med 59 in 123 pg/mg na zmerno uživanje alkohola, vrednosti pod 59 pg/mg pa na abstinenco. Berger idr. so predlagali drugačne mejne vrednosti, in sicer 56 pg/mg za opredelitev oseb z visokim tveganjem za prekomerno uživanje alkohola in 37 pg/mg za osebe s povečanim tveganjem. Vermeulen idr. so proučevali koncentracije nEtG pri osebah, ki so vsaj 6 mesecev abstinitale, in ugotovili, da koncentracija nEtG pod 7,6 pg/mg ne nasprotuje abstinenči. Najvišja koncentracija, ki so jo zaznali, je bila 23 pg/mg. Ti rezultati nakazujejo, da so prej predlagane mejne vrednosti za abstinenco (37 pg/mg, 59 pg/mg) morda previsoke [37].

Prednosti in slabosti določanja etilglukoronida v nohtih

Analiza nohtov ima v primerjavi z analizo las več prednosti. Nohti namreč rastejo počasneje kot lasje, in sicer nohti na rokah približno 3 mm na mesec, nohti na nogah pa 1 mm na mesec, medtem ko lasje na glavi zrastejo približno 1 cm na mesec. Zaradi počasnejše rasti nohtov se lahko EtG v njih intenzivneje kopiči, kar omogoča zaznavanje tudi nizkih koncentracij te snovi, na primer pri razlikovanju med osebami, ki alkohola ne uživajo, in tistimi, ki ga uživajo zmerno. Poleg tega lahko analiza nohtov predstavlja alternativo v primerih, ko vzorci las niso na voljo ali ko ni na voljo zadostne količine vzorca [39].

Kljub temu ima tudi analiza nohtov nekatere pomanjkljivosti. Mednje sodijo: nezadostna količina vzorca pri osebah, ki si grizejo nohte, prisotnost bolezni nohtov, kot so bakterijske ali glivične okužbe, ter možni vplivi lakiranja in čiščenja nohtov na rezultate analize [39].

KLINIČNA UPORABNOST

PEth in EtG sta pomembna neposredna biomarkerja za objektivno ugotavljanje in spremljanje uživanja alkohola. Njuna uporaba je posebej koristna, kadar podatki iz anamneze bolnikovega dejanskega uživanja alkohola ne odražajo zanesljivo, na primer zaradi nenamerne podcenjevanja količine ali nepripravljenosti za razkritje uživanja. Rezultati lahko dopolnijo klinično oceno in pomagajo pri prepoznavanju tveganega ali škodljivega uživanja alkohola, prav tako pa tudi pri spremljanju bolnikov, vključenih v zdravljenje zaradi prekomernega uživanja alkohola ali celo odvisnosti od alkohola.

Pomembna prednost omenjenih biomarkerjev je, da omogočata ocenjevanje uživanja alkohola v različnih časovnih obdobjih. PEth v krvi odraža predvsem uživanje v predhodnih nekaj tednih, medtem ko EtG v urinu omogoča zaznavanje nedavnega uživanja, predvsem v zadnjih 24–72 urah. Določanje EtG v lasih oziroma nohtih pa omogoča retrospektivno oceno uživanja v daljšem, večmesečnem obdobju. Sočasno določanje PEth in EtG je zato lahko koristno, kadar želimo pridobiti širši vpogled v vzorec uživanja alkohola ali preveriti skladnost rezultatov z bolnikovo anamnezo. Na primer, pozitiven EtG v urinu ob nizki koncentraciji PEth lahko kaže na nedavno uživanje, ki še ni povzročilo izrazitejšega porasta PEth. Pri tem je potrebno upoštevati različna časovna okna zaznavnosti obeh biomarkerjev [41].

EtG v urinu se pogosto uporablja pri spremljanju abstinence med zdravljenjem odvisnosti od alkohola, saj omogoča zaznavanje nedavnega uživanja tudi po tem, ko etanola v telesu ni več mogoče neposredno zaznati. PEth je zaradi daljšega obdobja zaznavnosti primernejši za spremljanje uživanja za obdobje zadnjih nekaj tednov. Večkratne meritve obeh biomarkerjev so koristne tudi za oceno uspešnosti zdravljenja in pri prepoznavi ponovnega uživanja alkohola. EtG v lasih in nohtih je uporaben predvsem takrat, ko je potrebna

retrospektivna ocena daljšega obdobja, vendar rezultati ne omogočajo natančne določitve količine ali časa zaužitja alkohola [28].

Pri interpretaciji rezultatov je vedno potrebno upoštevati uporabljeno metodo, mejne vrednosti, čas odvzema vzorca in vpliv drugih dejavnikov, ki povzročajo lažno višje ali lažno nižje izmerjene vrednosti. Pozitiven rezultat ne omogoča vedno zanesljive ocene količine zaužitega alkohola, negativen pa ne izključuje uživanja izven obdobja zaznavnosti. Biomarkerji zato ne morejo povsem nadomestiti anamneze in celostne klinične ocene,

temveč ju dopolnjujejo ter omogočajo objektivnejše spremljanje bolnika in ustrežnejše načrtovanje nadaljnje obravnave.

PRIMERJAVA NEPOSREDNIH BIOMARKERJEV ZA UGOTAVLJANJE UŽIVANJA ALKOHOLA

Tabela 1 povzema primerjavo glavnih značilnosti neposrednih biomarkerjev za ugotavljanje uživanja alkohola: časovno okno zaznavnosti, prednosti in omejitve biomarkerjev ter klinično uporabnost.

Tabela 1: Primerjava neposrednih biomarkerjev za ugotavljanje uživanja alkohola
Table 1: Comparison of direct biomarkers for the detection of alcohol consumption

Značilnosti	PEth	uEtG	hEtG	nEtG
Časovno okno zaznavnosti	Do 4 tedne	24–72 ur	Do 6 mesecev	3–6 mesecev
Glavne prednosti	Jetrna bolezen ne vpliva na izmerjeno vrednost. Dolgo okno zaznavnosti.	Neinvaziven odvzem. Jetrna bolezen ne vpliva na izmerjeno vrednost. Primeren za sledenje abstinence.	Neinvaziven odvzem. Preprosto shranjevanje. Ni vpliva starosti, spola, ITM, barve las.	Počasnejša rast nohtov pomeni večje kopičenje EtG. Primerno za določanje že nizkih zaužitih količin.
Glavne omejitve	Odvzem krvi z iglo. Ne definira natančne količine ali časa zaužitja alkohola. Hemoliza lahko povzroči lažno nižje vrednosti. Transfuzija lahko povzroči lažno višje vrednosti.	Etanol v ustnih vodicah, razkužilnih in brezalkoholnem pivu lahko povzroči lažno višje vrednosti. Odvisnost izmerjene koncentracije od mejne vrednosti.	Nestandardizirani laboratorijski postopki. Kozmetični postopki, parfumi na osnovi alkohola vplivajo na lažno višje vrednosti.	Ni primerno pri pogrizenih nohtih, boleznih nohtov. Vpliv lakiranja in čiščenja nohtov na rezultat. Manj standardizirane mejne vrednosti.
Klinična uporabnost	Objektivna ocena uživanja alkohola v predhodnih tednih. Spremljanje sprememb v uživanju in ocenjevanje uspešnosti zdravljenja. Pomoč pri prepoznavanju ponovnega uživanja alkohola.	Zaznavanje nedavnega uživanja alkohola (običajno v zadnjih 24–72 urah). Spremljanje abstinence med zdravljenjem odvisnosti od alkohola. Prepoznavanje nedavnega uživanja, če ga anamneza ne potrjuje.	Retrospektivna ocena uživanja alkohola v daljšem, večmesečnem obdobju. Dopolnilna ocena vzorca uživanja pri sumu na dolgotrajno čezmerno uživanje alkohola.	Dopolnilna retrospektivna ocena uživanja alkohola v daljšem obdobju, zlasti kadar je analiza las manj primerna.

ZAKLJUČEK

Objektivno ugotavljanje uživanja alkohola je pomembno za pravočasno prepoznavanje škodljivih vzorcev uživanja, ki lahko zgolj na podlagi anamneze ostanejo neprepoznani. Zanesljivejša ocena uživanja alkohola omogoča zgodnejše ukrepanje, ustreznejše načrtovanje obravnave in spremljanje sprememb v vzorcih uživanja ter tako prispeva k preprečevanju ali vsaj zmanjšanju resnosti zdravstvenih posledic, ki jih prekomerno uživanja alkohola povzroča.

Neposredna biomarkerja fosfatidiletanol (PEth) in etilglukuronid (EtG) predstavljata pomembno dopolnitev tradicionalnim metodam, saj omogočata objektivnejše vrednotenje uživanja alkohola v različnih časovnih obdobjih. PEth v krvi omogoča predvsem oceno uživanja v daljšem časovnem obdobju (do nekaj tednov), EtG v urinu zaznavanje kratkoročnega uživanja, določanje EtG v lasih in nohtih pa retrospektivno oceno v večmesečnem obdobju. Izbira ustreznega biomarkerja je zato odvisna predvsem od namena preiskave in obdobja, v katerem želimo oceniti uživanje alkohola.

Kljub visoki občutljivosti in specifičnosti biomarkerjev je treba pri interpretaciji rezultatov upoštevati omejitve posameznih metod, izbrane mejne vrednosti, čas odvzema vzorca in druge dejavnike, ki lahko vplivajo na izmerjeno vrednost. Posamezna meritev ne omogoča vedno zanesljive ocene količine zaužitega alkohola ali natančne opredelitve vzorca uživanja, negativen rezultat pa uživanja zunaj časovnega okna zaznavnosti ne izključuje. Biomarkerji zato ne nadomeščajo anamneze in celostne klinične ocene, temveč ju dopolnjujejo. Njihova premišljena uporaba omogoča zanesljivejšo vrednotenje uživanja alkohola in predstavlja pomembno podporo pri prepoznavanju oseb, ki potrebujejo nadaljnjo obravnavo.

Za širšo in zanesljivejšo rabo biomarkerjev v klinični praksi so potrebne nadaljne raziskave o diagnostični vrednosti biomarkerjev, poenotenje analitskih metod in določanja mejnih vrednosti ter jasna opredelitev uporabnosti posameznega biomarkerja v različnih kliničnih okoliščinah. S tem bi izboljšali primerljivost rezultatov med različnimi laboratoriji in dodatno prispevali k zanesljivosti vrednotenja uživanja alkohola.

Literatura

- Wood AM, Kaptoge S, Butterworth AS, et al. Risk thresholds for alcohol consumption: combined analysis of individual-participant data for 599 912 current drinkers in 83 prospective studies. *Lancet Lond Engl*. 2018;391:1513–23. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30134-X
- Díaz LA, König D, Weber S, et al. Management of alcohol use disorder: a gastroenterology and hepatology-focused perspective. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2025;10:475–90. doi: 10.1016/S2468-1253(24)00380-7
- Davis CG, Thake J, Vilhena N. Social desirability biases in self-reported alcohol consumption and harms. *Addict Behav*. 2010;35:302–11. doi: 10.1016/j.addbeh.2009.11.001
- Gmel G, Daepfen JB. Recall bias for seven-day recall measurement of alcohol consumption among emergency department patients: implications for case-crossover designs. *J Stud Alcohol Drugs*. 2007;68:303–10. doi: 10.15288/jsad.2007.68.303
- Schröck A, Wurst FM, Thon N, et al. Assessing phosphatidylethanol (PEth) levels reflecting different drinking habits in comparison to the alcohol use disorders identification test - C (AUDIT-C). *Drug Alcohol Depend*. 2017;178:80–6. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2017.04.026
- Peterson K. Biomarkers for alcohol use and abuse—a summary. *Alcohol Res Health J Natl Inst Alcohol Abuse Alcohol*. :28:30–7.
- Morini L, Politi L, Groppi A, et al. Determination of ethyl glucuronide in hair samples by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom JMS*. 2006;41:34–42. doi: 10.1002/jms.943
- Kane JC, Chirayil P, Pawar R, et al. Measuring alcohol consumption with biomarkers in intervention studies: A scoping review. *Alcohol Clin Exp Res*. 2025;49:1843–54. doi: 10.1111/acer.70114
- Perilli M, Toselli F, Franceschetto L, et al. Phosphatidylethanol (PEth) in Blood as a Marker of Unhealthy Alcohol Use: A Systematic Review with Novel Molecular Insights. *Int J Mol Sci*. 2023;24. doi: 10.3390/ijms241512175
- Maenhout TM, De Buyzere ML, Delanghe JR. Non-oxidative ethanol metabolites as a measure of alcohol intake. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2013;415:322–9. doi: 10.1016/j.cca.2012.11.014
- Berg T, Eliassen E, Jørgenrud B, et al. Determination of phosphatidylethanol 16:0/18:1 in whole blood by 96-well supported liquid extraction and UHPLC-MS/MS. *J Clin Lab Anal*. 2019;33:e22631–e22631. doi: 10.1002/jcla.22631
- Hahn JA, Murnane PM, Vittinghoff E, et al. Factors associated with phosphatidylethanol (PEth) sensitivity for detecting unhealthy alcohol use: An individual patient data meta-analysis. *Alcohol Clin Exp Res*. 2021;45:1166–87. doi: 10.1111/acer.14611
- Viel G, Boscolo-Berto R, Cecchetto G, et al. Phosphatidylethanol in blood as a marker of chronic alcohol use: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci*. 2012;13:14788–812. doi: 10.3390/ijms131114788
- Helander A, Hansson T. The alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) - test performance and experiences from routine analysis and external quality assessment. *Scand J Clin Lab Invest*. 2023;83:424–31. doi: 10.1080/00365513.2023.2253734
- Biondi A, Freni F, Carelli C, et al. Ethyl glucuronide hair testing: A review. *Forensic Sci Int*. 2019;300:106–19. doi: 10.1016/j.forsciint.2019.05.004
- Andresen-Streichert H, Müller A, Glahn A, et al. Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. *Dtsch Arzteblatt Int*. 2018;115:309–15. doi: 10.3238/arztebl.2018.0309
- Landberg R. Can Urinary Ethyl Glucuronide Be Used as a Biomarker of Habitual Alcohol Consumption? *J Nutr*. 2019;149:2077–8. doi: 10.1093/jn/nxz201
- Walsham NE, Sherwood RA. Ethyl glucuronide. *Ann Clin Biochem*. 2012;49:110–7. doi: 10.1258/acb.2011.011115
- Triolo V, Spanò M, Buscemi R, et al. EtG Quantification in Hair and Different Reference Cut-Offs in Relation to Various Pathologies: A Scoping Review. *Toxics*. 2022;10. doi: 10.3390/toxics10110682
- Wang H, Zhang Y, Fan E, et al. A novel fast-dried urine spot-based method for the analysis of EtS and EtG in urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*. 2021;1171:122642–122642. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122642
- Ghosh S, Jain R, Singh S, et al. A simplified approach for determination of urinary ethyl glucuronide by gas chromatography–mass spectrometry. *J Anal Sci Technol*. 2021;12:35–35. doi: 10.1186/s40543-021-00290-6
- Simms P. B-161 Liquid chromatography/mass spectrometry analysis of ethyl glucuronide and ethyl sulfate using a perfluorophenyl stationary phase. *Clin Chem*. 2024;70:hvae106.521-hvae106.521. doi: 10.1093/clinchem/hvae106.521
- Zheng Y, Helander A. Solid-Phase Extraction Procedure for Ethyl Glucuronide in Urine. *J Anal Toxicol*. 2008;32:778–81. doi: 10.1093/jat/32.9.778
- Janda I, Alt A. Improvement of ethyl glucuronide determination in human urine and serum samples by solid-phase extraction. *J Chromatogr B Biomed Sci App*. 2001;758:229–34. doi: 10.1016/S0378-4347(01)00186-4
- Santhosh SR, Sampath S, Gupta A, et al. Development and validation of LCMS method for determination of Ethyl Glucuronide (EtG) in urine. *Med J Armed Forces India*. 2022;78:316–21. doi: 10.1016/j.mjafi.2021.03.010
- Hernández Redondo A, Körber C, König S, et al. Inhibition of bacterial degradation of EtG by collection as dried urine spots (DUS). *Anal Bioanal Chem*. 2012;402:2417–24. doi: 10.1007/s00216-011-5687-7
- McDonnell MG, Skalksky J, Leickly E, et al. Using ethyl glucuronide in urine to detect light and heavy drinking in alcohol dependent outpatients. *Drug Alcohol Depend*. 2015;157:184–7. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2015.10.004
- van de Luitgaarden IAT, Beulens JWJ, Schrieks IC, et al. Urinary Ethyl Glucuronide Can Be Used as a Biomarker of Habitual Alcohol Consumption in the General Population. *J Nutr*. 2019;149:2199–205. doi: 10.1093/jn/nxz146
- Jones AW. Brief history of the alcohol biomarkers CDT, EtG, EtS, 5-HTOL, and PEth. *Drug Test Anal*. 2024;16:570–87. doi: 10.1002/dta.3584
- Meredith LR, Kirkland AE, Green R, et al. Strong concordance and correlation between direct alcohol biomarkers and alcohol self-report among youth with variable drinking patterns. *Drug Alcohol Depend*. 2025;274:112734–112734. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2025.112734
- Tawiah KD, Riley SB, Budelier MM. Biomarkers and Clinical Laboratory Detection of Acute and Chronic Ethanol Use. *Clin Chem*. 2022;68:635–45. doi: 10.1093/clinchem/hvac004
- Palmer RB. A review of the use of ethyl glucuronide as a marker for ethanol consumption in forensic and clinical medicine. *Semin Diagn Pathol*. 2009;26:18–27. doi: 10.1053/j.semdp.2008.12.005
- Stewart SH, Koch DG, Burgess DM, et al. Sensitivity and specificity of urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in liver disease patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013;37:150–5. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01855.x
- Jatlow PI, Agro A, Wu R, et al. 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*. 2014;38:2056–65. doi: 10.1111/acer.12407

- 35 Morini L, Sempio C, Moretti M. Ethyl Glucuronide in Hair (hEtG) after Exposure to Alcohol-based Perfumes. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018;19:175–9. doi: 10.2174/1389201019666180405164208
- 36 Keten A, Zeren C, Arslan MM, *et al.* Determination of ethyl glucuronide in fingernails by LC/MS-MS. *Romanian J Leg Med.* 2013;21:67–72. doi: 10.4323/rjlm.2013.67
- 37 Vermeulen L, van Nuijs ALN, Crunelle CL, *et al.* Ethyl glucuronide and alcohol abstinence: A correlation study in hair and fingernails to establish a cut-off value in fingernails for teetotalers. *Forensic Sci Int.* 2022;335:111278–111278. doi: 10.1016/j.forsciint.2022.111278
- 38 Jones J, Jones M, Plate C, *et al.* Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Assay to Detect Ethyl Glucuronide in Human Fingernail: Comparison to Hair and Gender Differences. *Am J Anal Chem.* 2012;3:83–91. doi: 10.4236/ajac.2012.31012
- 39 Cappelle D, Neels H, Yegles M, *et al.* Ethyl glucuronide in nails: method validation, influence of decontamination and pulverization, and particle size evaluation. *Forensic Toxicol.* 2016;34:158–65. doi: 10.1007/s11419-015-0302-9
- 40 Morie KP, Gilstad-Hayden K, Martino S, *et al.* Sensitivity, specificity, and discordance with self-report of nail sample testing for alcohol and cannabis. *Drug Alcohol Depend.* 2024;261:111358–111358. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2024.111358
- 41 Reisfield GM, Teitelbaum SA, Opie SO, *et al.* The roles of phosphatidylethanol, ethyl glucuronide, and ethyl sulfate in identifying alcohol consumption among participants in professionals health programs. *Drug Test Anal.* 2020;12:1102–8. doi: 10.1002/dta.2809