



## Alkoholmarkören fosfatidyletanol (B-PEth) i helblod för påvisning av alkoholintag



Av Yufang Zheng, Kemist, Med Dr, Unilabs AB

Alkoholmarkörer används för att påvisa alkoholintag eller diagnostisera alkoholmissbruk i ett tidigt stadium för att förebygga hälsoproblem i ett senare skede. Fördelen med alkoholmarkörer är att de fortfarande är mätbara när etanolen har försvunnit från kroppen. Nackdelen med en del alkoholmarkörer är att de uppvisar låg sensitivitet och specificitet, andra faktorer förutom alkoholen som t.ex. rökning, mediciner, genetiska variationer kan bidra till ett högt värde. Alkoholmarkören fosfatidyletanol (PEth) korrelerar signifikant mot mängden alkoholintag och har hög sensitivitet och specificitet (~100 %).

Fokus på PEth i kliniskt rutinlaboratorium har ökat de senaste åren. Den bidragande orsaken till det ökade intresset för PEth-analysen är utvecklingen av nya analysmetoder. Idag mäts PEth i helblod med enkel provupparbetning på masspektrometri (MS) som ger både selektivare och snabbare analyser. PEth-analysen är ny på Unilabs AB och uppmärksammas därför i denna artikel.

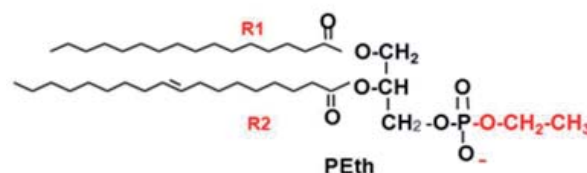
### Bakgrund

PEth upptäcktes av en slump i början på 1980-talet av C. Allings. I studier med alkoholbehandlade råttor stördes försöken av en okänd substans som senare fick namnet PEth. Forskningen som följde visade att PEth finns i många olika organ i kroppen men med högst koncentration i njure, CNS, mag- och tarmkanalen. Hos människor finns PEth även i blod och är lokaliserade främst till erythrocytmembran. Det är i helblod som PEth mäts i rutinlaboratorier för att spåra alkoholintag.

### Bildning av PEth

PEth är en alkoholmetabolit som normalt inte finns i kroppen men vid intag av alkohol bildas PEth i en transfosforyleringsreaktion som katalyseras av enzymet fosfolipas D (PLD). Under normala betingelser katalyserar PLD hydrolysen av fosfatidylkolin genom att använda vatten som substrat för att bilda fosfatidsyran men transfosforyleringssteget favoriseras i närvaron av etanol och PEth bildas istället.

PEth är ett samlingsnamn för olika lipidformer där alla har ett gemensamt glycerolhuvud med etanolgruppen bunden och två fettsyror som varierar i olika antal kol och mättnadsgrader. Nomenklaturen för fettsyror anges i siffror ex. PEth-16:0/18:1 (antal kol för den ena fettsyran: antal mättnadsgrader (R1) / antal kol för den andra fettsyran: antal mättnadsgrader (R2)). Molekylkompositionen för PEth är en avspiegling av fosfatidylkolinformerna.



### Mätning av B-PEth med MS

Tidigare rutinmetod som baseras på vätske-kromatografi med ljusspridningsdetektion är både tids- och arbetskrävande. Det är en oselectiv metod och



## ALKOHOLMARKÖREN FOSFATIDYLETANOL (B-PETH) I HELBLOD FÖR PÅVISNING AV ALKOHOLINTAG

► ► Fortsättning från sid 1

mäter PEth som en totalmängd. MS mäter molekylens unika masstal/laddning (m/z), kan skilja på de olika PETH formerna och upp till 48 olika former är klassade varav PEth-16:0/18:1 och PEth-16:0/18:2 är de mest vanliga molekylerna och utgör ca 60 % av total-PEth. MS ger både en säkrare identifiering och kvantifiering baserad på molekylvikt samt snabbare analysid och används på Unilabs för att mäta B-PEth. Endast PEth-16:0/18:1, som är den diagnostiskt mest känsliga formen svaras ut både kvalitativt och kvantitativt.

### Artificiell bildning av PEth i helblod

I studier har man sett att PEth bildas i helblod i närvaron av etanol om det förvaras mer än 72 h både i rumstemperatur (22°C) och vid -20°C. Vid förvaring i kyl 4°C är proverna stabila i 5 dagar och hållbarheten är längst vid -80°C (minst 1 år). Rätt provhantering är viktigt för att förhindra falskt förhöjda PEth-värden.

### PEth som alkoholmarkör

PEth kan detektera alkoholkonsumenter som har haft uppehåll ända upp till 14 dagar. Med tidigare okänsligare metod påvisas PEth efter ett intag av 50g etanol/dag i tre veckor. MS som både är en selektiv och känslig analysmetod kan mäta PEth även hos normalkonsumenter efter intag av ett glas alkohol per dag, ca 14g etanol. Det finns individuella variationer i bildningen av PEth, därför är det svårt att relatera ett positivt PEth resultat till alkoholintag av en bestämd mängd. PEth har en halveringstid på ~7 dagar.

För att få en mer korrekt kliniskt bild av individer som ligger i riskzon för alkoholmissbruk, är det bättre att använda PEth i kombination med andra markörer, t.ex. etylglukuronid och etylsulfat i urin som påvisar senaste intaget eller kolhydratfattigt transferrin som mäter alkoholkonsumtion under en längre tid.

PEth är fortfarande nytt i kliniskt bruk och nya referensramar som skiljer på låg-medel-och högrisk-alkoholkonsumenter behöver utvärderas. Idag analyseras PEth i flera laboratorier i Sverige och de flesta svarar ut endast PEth-16:0/18:1. Fokus på endast en PEth form förenklar och öppnar för framtida standardisering av metoden. ✨

### Referenser

Alling, C., et al. An abnormal phospholipid in rat organs after ethanol treatment. *FEBS Lett* 1983;152:24-8

Arradottir, S., ET al., Phosphatidylethanol (PEth) concentrations in blood is correlated to reported alcohol intake in alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol*, 2006. 41(4):p.431-7.

Helander, A, Zheng, Y. Molecular species of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in human blood measured by LC-MS. *Clin Chem* 2009;55:1395-405.

Gnann, H., et al., Selective detection of Phosphatidylethanol homologues in blood as biomarkers for alcohol consumption by LC-ESI-MS/MS. *J Mass Apectrom*, 2009. 44(9): p. 1293-9.

Zheng, Y., et al. Method development for routine liquid chromatography-mass spectrometry measurement of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in blood. *Clin Chim Acta* 2011; 412:1428-1435.

Stewart, S.H., et al., Preliminary evaluation of Phosphatidylethanol and alcohol consumption in patients with liver disease and hypertension. *Alcohol Alcohol*, 2009. 44(5): p. 464-7.

Helander, A., et al., Monitoring of the alcohol biomarkers PEth, CDT and EtG/EtS in an outpatient treatment setting. *Alcohol Alcohol*, 2012. 47(5): p.552-7