

Review sulla corretta determinazione laboratoristica dell'alcolemia e dei suoi marcatori biochimici

Susanna Melina*, Santino Gratteri**, Loris Rivalta***

Introduzione

Certamente il problema della valutazione dell'alcolemia e dell'abuso di alcol, come, per altro, quello delle droghe in senso generale, rimane un problema spinoso sia dal punto di vista clinico metabolico che dal punto di vista laboratoristico.

Una delle cattive abitudini che in Italia si riscontrano, per quanto riguarda, ad esempio, i pronto soccorsi, è che, invece di applicare la legge e fare prima una valutazione clinica (che è l'unica ad avere un valore medico legale definitivo), si demanda spesso il problema alla sola determinazione laboratoristica che, invece, dovrebbe avere solamente un valore di conferma del dato clinico.

È, infatti, il dato clinico che ci rivela l'azione dell'alcol e/o ed ancora di più delle droghe sul cervello o meglio sui suoi recettori interessati e non il dato laboratoristico.

Anzi, questo, spesso è eseguito ed interpretato male, ad esempio, senza considerazione farmacocinetica e con difficoltà interpretative evidenti per chi non è addentrato profondamente nella problematica farmaco-tossicologica e recettoriale.

Questa prassi, di per se inconsueta, potrebbe avere conseguenze giuridiche gravi come la sottovalutazione o la sopravvalutazione dello stato di alterazione cerebrale indotto dalla droga (più che dall'alcol che è molto più evidente e noto) e quindi della relativa sanzione da applicare.

Esempio, di quanto sopra indicato, sono l'assunzione e la valutazione dei cannabinoidi e quella della cocaina.

I cannabinoidi, infatti, è possibile reperirli come THC e/o THC COOH nel sangue per al massimo un'ora, un'ora e mezza, periodo in cui si distribuiscono nei grassi corporei e da cui vengono rilasciati lentamente.

Tale dato fa sì che nel sangue, anche con le metodiche più sofisticate, essi non siano valutabili bene, rispetto alla loro azione sul cervello (recettori CB1) che invece dura per almeno 4 ore. (anche per questo la clinica è essenziale).

Questo periodo è valevole solo per le manovre grossolane, come quelle della guida, ma se facciamo riferimento alle manovre fini che sono imposte ad esempio, per la conduzione di aeromobili, studi americani condotti su simulatori per partenze ed atterraggi di aerei rivelano influenze sui movimenti fini fino a 12-24 ore.

* Professore di Medicina legale. Facoltà di Medicina. Università di Catanzaro.

** Docente di Tossicologia Forense Scuola di specializzazione in Medicina legale. Università di Catanzaro.

*** Biotecnologa.

Si capisce bene come la clinica sia necessaria ma anche come, in tale caso e solo in tale caso, una valutazione dei valori urinari entro le 4 ore dall'uso, mostri un picco nettamente superiore a 150 ng/ml di THC COOH.

Quindi nel caso di uso o valutazione di soggetti che hanno usato cannabinoidi si ritiene idoneo anche un prelievo di urine mentre per tutte le altre droghe potrebbe essere fuorviante.

Ribadiamo comunque che è sempre la evidenza clinica il principale criterio per valutare l'effetto psicotropo.

Inoltre, non è rara, la condizione opposta ovvero trovare solo il metabolita THC COOH che, a determinate condizioni, potrebbe permanere presente (sempre a basse concentrazioni) per lento rilascio dai tessuti adiposi.

Riassumendo, quindi:

1. trovare THC e THC COOH nel sangue è un dato laboratoristico molto specifico per indicare un uso recente ed un effetto sul cervello;
2. trovare THC COOH nel sangue con un ulteriore reperto di THC e THC COOH nelle urine a livello di valori di picco molto probabilmente siamo ancora entro le 4 ore in cui i cannabinoidi incidono sul cervello;
3. trovare tracce di THC COOH nel sangue con valori dello stesso inferiori a 100 ng/ml nelle urine molto probabilmente siamo fuori dall'effetto sul cervello;
4. ed infine trovare THC COOH solo nelle urine a valori sotto i 100 ng siamo sicuramente fuori da un effetto cerebrale.

Tutto questo discorso è indicativo perché è comunque soggetto alla clinica e serve solamente per conferma di questa e non il contrario.

Nel caso della cocaina, invece, laboristicamente parlando l'interpretazione è esattamente opposta.

Ovvero la cocaina rimane nel sangue sopra il cut off per 6/8 ore ma il suo effetto sul cervello e quindi sui recettori D1 e D2 e stereoisomeri non dura più di 60-90 minuti in fase "UP" e 30-60 minuti in fase "DOWN".

Il tutto porta di conseguenza a evidenziare che il suo effetto sulla guida si conclude entro 2 ore nonostante la presenza di cocaina e, ancor più del suo metabolita principale benzoilecgonina nel sangue si può protrarre per 6-8 ore per la cocaina e oltre le 12-18 ore per la BEG.

Anche qui, la valutazione andrebbe fatta tenendo conto del tempo di emivita della cocaina e del rapporto cocaina/BEG.

Quando questo parametro ha superato le 2/3 emivite ovvero 1 parte di cocaina e 3 parti di metabolita la sua azione sui recettori e quindi sul cervello si può considerare ampiamente conclusa.

Anche in questo caso comunque siccome la BEG permane per più tempo nel sangue, soprattutto in soggetti cocainomani veri che fanno BINGE, cioè assunzioni plurime, si possono avere concentrazioni di BEG elevate che mascherano il rapporto con la cocaina e quindi la reale tempistica. Per cui è importante sottolineare che il laboratorio può, anzi deve, essere usato per conferma della evidenza clinica ma la diagnosi finale deve e può essere solamente clinica.

Rimarcare tali concetti è importante perché dalle numerose personali esperienze in ambito tossicologico-forense, è fondamentale relazionare, anche a livello giuridico e con certezza medicolegale, l'evidenza di un assunto di sostanze stupefacenti e/o psicotrope, al fine di poter essere di aiuto nelle casistiche quali: rilascio patente, aiuto medico e psicologico per la dipendenza, ecc.

Passiamo ora all'alcol

Sembra inutile ricordare che un uso corretto di sostanze contenenti alcol, come ad esempio il vino, in quantità modeste (1 UA a pasto ovvero 125 ml) soprattutto se rosso, visto i contenuti di tannini, resveratrolo, polifenoli, ecc. non debba essere criminalizzato, anzi tutt'altro, anche se mangiare uva o bere succo d'uva non fermentato sia sicuramente preferibile.

Vedere, però, giovani che si ubriacano con alcolici o superalcolici non è certo molto edificante.

Io credo, però, che il fenomeno, per le complicazioni sulla loro stessa salute, debba essere controllato e possibilmente eliminato, più con metodi di educazione sanitaria che con repressione, che di solito, soprattutto nei giovani, sortisce l'effetto opposto.

Veniamo ora allo scopo di questo lavoro che è quello di evidenziare le corrette operazioni di prelevamento, i corretti metodi di laboratorio ed i marcatori più o meno noti del monitoraggio dei soggetti etilisti o presunti tali.

Il prelievo o meglio i prelievi

Il prelievo, per il dosaggio dell'alcolemia, va eseguito a seconda dello scopo che il medico si prefigge.

In qualsiasi caso, comunque, la precauzione importante è la disinfezione della cute, che non va assolutamente eseguita con alcol ma con una sale di amina quaternaria o acqua ossigenata, onde evitare sovrastima da inquinamento alcolico esterno.

Se lo scopo è medico legale, va attivata la catena di controllo, per cui i prelievi sono due, anzi tre:

il primo per l'esame di screening e si preleva il sangue in provetta asciutta per avere siero da analizzare con metodica di primo livello tramite determinazione enzimatica routinaria.

Il secondo invece va prelevato come plasma su provetta eparinata in modo da avere plasma ovvero sangue intero per una analisi di secondo livello.

Questa dovrebbe essere eseguita in spazio di testa su strumentazione adeguata di secondo livello ovvero, ove possibile tramite spazio di testa abbinato o a FID o a GC MS;

oppure, sempre in spazio di testa, ma tramite vials da 10 ml e fibra SPME adeguata che poi va anche questa immessa nell'iniettore del FID o del GC-MS.

Il terzo è identico al secondo e va sturato preferibilmente a -20 °C per eventuali controanalisi a disposizione delle autorità giudiziarie interessate.

Questa procedura può essere, evitata o comunque limitata, solamente quando l'intenzione del medico abbia fini solamente di controllo ed in questo caso anche la sola determinazione enzimatica di primo livello è sufficiente a dare una informazione più o meno corretta dell'abuso.

Si fa presente, comunque, che il primo prelievo di solito, mancando di parte corpuscolata, concentra l'alcol nel siero che mediamente risulta con una sovrastima del 15-25% per diminuzione del volume.

Infatti esso arriva al cervello come sangue intero e quindi è volumetricamente più diluito di quello dosato nel siero, anche perché contiene anche la parte corpuscolata.

Quindi il dato non è considerabile accurato ma solo molto indicativo.

L'errore accettabile per determinazioni medico legali dovrebbe essere con valore del CV inferiore al 5% come si ottiene di solito sia con il FID che con il Massa.

Discorso diverso, può essere fatto invece se si vuole monitorare un soggetto etilista, in tale caso sapendo che il dato è tecnicamente, lievemente incrementato ci sembra superfluo, non essendoci implicazioni medico legali serie, utilizzare strumentazione altamente professionale come nel precedente scopo anche perché, di solito, lo si ripete con la stessa metodica di primo livello e quindi, sapendo che è lievemente aumentato è perfettamente correlabile con le determinazioni precedenti.

Inoltre come vedremo ci sono ben altri parametri meno variabili e più attendibili che monitorizzano l'eventuale uso di sostanze alcoliche.

Cenni di farmacologia

L'etanolo è una molecola neuro-psicotropa euforizzante/deprimente a seconda della dose sul SNC; esso viene assorbito per circa il 70-75% nello stomaco e per il 20-25% nel duodeno e solamente il 5% tra tenue e colon.

La sua velocità di assorbimento varia di molto a seconda della quantità assunta, della presenza di cibo nello stomaco, del numero di dosi, dello svuotamento gastrico, digiuno, ecc. In quest'ultimo la velocità di assorbimento è molto alta (in circa 1 h si assorbe quasi tutto) mentre mediamente a stomaco pieno esso viene assorbito entro 2-6 ore.

Il picco alcolemico nel sangue lo si ha tra i 30 e 45 minuti e di solito viene smaltito tra le 4 e le 6 ore (a volte anche più, specie nelle donne le quali lo metabolizzano molto più lentamente per deficit enzimatici strutturali).

Il primo processo metabolico inizia già nello stomaco con l'alcol deidrogenasi e formazione di acetaldeide ma poi prosegue nel fegato tramite tre principali meccanismi:

- 1. la già accennata alcol deidrogenasi (che in toto metabolizza circa il 90% dell'etanolo immesso);*
- 2. il MEOS (sistema microsomiale epatico);*
- 3. la Catalasi.*

Questi ultimi due sistemi sono dedicati ed attivi soprattutto negli etilisti cronici e sono piuttosto deficitari nel sesso femminile (vedi sopra) ma soprattutto, queste ultime, hanno un grosso deficit di alcol deidrogenasi gastrica che porta a una metabolizzazione più lenta del 30-35% rispetto ai maschi.

Con questo non vogliamo dire che dovremmo essere più tolleranti con il sesso femminile ma, sicuramente, dovremmo però fare campagne di informazione verso questo sesso.

Inoltre, visto che gli effetti per il cut off di 0,5 gr/l sostanzialmente si riducono al cosiddetto effetto tunnel elevare lievemente (ma non tanto) il loro cut off ad esempio portarlo, visto il loro deficit metabolico, a 0,6 gr/l.

A tale proposito vorremmo ricordare con una tabella come rendersi conto dello stato alcolico di un paziente (tolleranza a parte).

Tasso alcolemico e sintomi correlati

Alcolemia (g/l)*	Effetti (indicativi)**
0,2	Socievolezza, espansività, rossore in volto
0,5	Diminuzione dei freni inibitori, riduzione visione laterale effetto tunnel
0,8-1,2	Azione depressiva sui centri motori, perdita dell'autocontrollo e disturbi dell'equilibrio, ebbrezza
1,2-2,0	Vera e propria ubriachezza, andatura barcollante
2,0-4,0	Perdita del tono muscolare, indifferenza all'ambiente circostante, assenza di reazione agli stimoli, immobilità, mutacismo, nistagmo
> 4,0	Inconscienza e coma, depressione respiratoria e cardiovascolare, morte

* L'alcolemia indica i livelli di alcol nel sangue e dipende in prima istanza dalla qualità e dalla quantità degli alcolici assunti.

** Indicativi, poiché, a parità di alcolemia, gli effetti dell'alcol dipendono dalla tolleranza individuale alla sostanza; negli alcolisti, ad esempio, la gravità dell'intossicazione è minore, mentre gli adolescenti e le donne possono andare in coma etilico già superando i 2,5 grammi per litro; nei bambini alcolemie superiori ai 2 grammi/litro possono risultare fatali.

La velocità di ossidazione è direttamente proporzionale al peso della persona ed a quello del fegato in condizioni salutari.

Mediamente nell'uomo adulto la velocità si aggira intorno ai 100 mg/kg/ora (7 gr/ora) ma con una capacità teorica di circa 340 gr/ora in soggetti particolarmente, diciamo dotati.

Tralasciando le varie attività nei vari tessuti, dei vari isoenzimi dell'alcol deidrogenasi e le varie km dei vari isoenzimi (da 33 a 600 mm) possiamo dire che la FPM media sia 5-6 mm/l/ora che corrispondono ad una metabolizzazione media del 20/30% ora dell'alcol introdotto ovvero ad una diminuzione della alcolemia pari a 15-20 mg/dl ora o se preferite 0,15-0,2 gr/l ora.

Aggiungiamo delle tecniche utili per valutare, anche dopo ore, la quantità di alcol ingerito, e alleghiamo a fine articolo alcune tabelle utili.

Ecco il vero scopo di questa review e cioè la parte del laboratorio che riguarda il monitoraggio dell'alcol e degli alcolisti e soprattutto i marcatori biochimici e la loro giusta interpretazione.

Abbiamo premesso che i principali scopi della determinazione dell'alcol nel sangue o in altri liquidi biologici sono diversi e variano dalla dimostrazione di abuso alcol emico acuto recentissimo (vedi incidenti stradali) al controllo medico degli etilisti, alla dimostrazione di uso o abuso nel tempo o meglio definito cronico (vedi indicazioni verso la commissione dell'Azienda sanitaria che rilascia l'autorizzazione per la patente sia la prima volta sia dopo ritiro).

Inoltre, esiste anche uno scopo prettamente medico legale, nella valutazione di uso o abuso pre-morte rilevabile in tempo post mortem e sue implicazioni giuridiche.

In linea generale il laboratorio può dare il suo contributo in tutti gli scopi ma con diversi marcatori più o meno sensibili e a seconda delle sue capacità offrire un quadro biochimico più o meno completo ma scientificamente accettabile.

Per essere più chiari facciamo alcuni esempi

Come già anticipato se vogliamo verificare l'uso o l'abuso acuto durante la guida potremmo considerare i seguenti parametri con relative critiche.

L'etanolemia

L'etilometro cioè la presunta verifica della alcolemia nel respiro.

In realtà questo dato potrebbe essere accettato solamente come screening iniziale.

Esso, infatti, ha ben poca validità scientifica sia per la alta variabilità di risposta tra le persone, contro invece la standardizzazione del rapporto 1:2100 che sostanzialmente, purtroppo, in realtà, potrebbe variare mediamente da 1:1000 fino ad 1:3200 con punte estreme comprese tra 1:750 ed 1:7320, sia perché lo strumento subisce variabilità sia ambientali che fisiologiche come quelle dovute alla aspirazione ed alla espirazione sicuramente soggettive e non paragonabili a criteri fissi.

Di fronte a tale variabilità dare una validità scientifica al dato etilometrico è come, se non peggio, validare scientificamente quali-quantitativamente un dato immunometrico sulle droghe.

Quindi accettiamo tale dato come screening ma, in caso di positività, per essere scientificamente accurati rivolgamoci alla determinazione in spazio di testa sia in FID che in GC-MS o similari) ed al limite, se non si hanno queste tecniche a disposizione, utilizziamo la determinazione enzimatica sapendo però che mediamente si tende a *sovrastimare il dato del 20-25%*.

Facciamo una piccola ma importantissima annotazione: in alcuni casi medico legali, quando potrebbe esserci il sospetto di neogenesi di alcol da putrefazione, combustione o scarsa conservazione del prelievo è assolutamente essenziale verificare tramite anche la semplice presenza o il giusto rapporto con l'etanolo la acetaldeide.

Non esiste, infatti, una assunzione di alcol senza la presenza del suo principale metabolita acetaldeide che come noto è indice di passaggio nello stomaco e nel fegato.

Nei casi suddetti, in cui ci siano le problematiche sovraespresse, l'assenza o comunque la presenza di acetaldeide

non confacente al metabolismo dell'alcol, una eventuale anche alta determinazione alcolemica non può aver significato di assunzione esogena ma solo di neoproduzione sotto varie forme di etanolo di altra origine.

Esistono altri marcatori specifici anche dell'uso acuto oltre al suddetto?

Certamente non solo esistono ma sicuramente hanno maggiore validità nel medio e lungo periodo del dato etilometrico (ma non di quello cromatografico).

Tra i più noti ricordiamo l'*Etilglicuronide* e l'*Etilsolfato*.

Certamente, ad esempio, l'*etilglicuronide* ematico è un ottimo marcatore sierico con una specificità del 100%, ma, essendo un *metabolita precoce* dell'alcol, non permette di indicare, nel tempo, il tasso esatto né la finestra di rilevazione esatta.

Ad esempio, per chiarire meglio il concetto, in un eventuale incidente, esso persiste alterato in un periodo successivo che, per il sangue, risulta compreso tra le 6 e le 12/14 ore dalla assunzione alcolica.

In altre parole sarebbe preferibile dosare l'alcolemia entro le 6-8 ore dall'assunzione e, nel caso in cui l'alcol dopo 6-8 ore non sia più rilevabile, fare riferimento all'*ETG* sierico se invece vogliamo una idea ancora tempo dopo (2-5 giorni) è meglio ricorrere all'*ETG* urinario che può permanere alterato per circa 5 giorni sopra i 500 pg/ml.

Stessa cosa potrebbe essere detta per l'*Etilsolfato*.

Anche qui, nel caso di neoproduzione alcolica post mortem, la valutazione di *ETG* di genesi fisiologica è di valido aiuto per la discriminazione tra assunzione e neoproduzione.

Il Fosfatidiletanolo (PEth)

Altro marcatore, poco conosciuto, ma altrettanto efficace è il *Fosfatidiletanolo (PEth)*.

Esso in realtà è parte importante degli esteri etilici degli acidi grassi (FAEE) è rilevabile già dopo 30 minuti dalla assunzione *alcolica* è *direttamente proporzionale a questa*.

Esso, però, soffre dello stesso problema, anzi più prolungato, del *ETG* in quanto permane alterato fino a 2-3 settimane dalla assunzione medesima.

Per questo motivo nei paesi più evoluti sta sostituendo, come marcatore temporale, la più conosciuta *CDT*.

Ad esempio, per descriverne la sua attendibilità, mentre *ETG* e *CDT* sono difficilmente stabili e misurabili su sangue secco, il *Fosfatidiletanolo* è *perfettamente stabile e rilevabile per 2-3 settimane anche su sangue essiccato e /o lievemente deteriorato*.

Sostanzialmente però sia l'*ETG* che il *PEth* (più quest'ultimo) sono in grado di dimostrare, anche a medio termine, un abuso di sostanze alcoliche sicuramente sopra i limiti di legge, ma non di evidenziare un dato accurato nel momento dell'incidente.

Hanno comunque altri vantaggi nell'allungamento del monitoraggio temporale.

I marcatori per il consumo cronico

Ne faremo qui una breve, ma utile esposizione, iniziando dall'*etilglicuronide*, l'*etilsolfato* ed il *fosfatidiletanolo* che, come già sopraindicato, se dosati nelle urine forniscono rispettivamente un monitoraggio di abuso per 5 giorni per *ETG* ed *ETS* e di circa 2-3 settimane per *fosfatidiletanolo*.

Inoltre, vorremmo ricordare come l'*ETG* ed i *FAEE*, sono dosabili anche nelle matrici cheratiniche (capelli, peli pube, ecc.), e come per le sostanze d'abuso, posso essere certamente un valido aiuto nel monitoraggio degli etilisti e nelle decisioni prese a carico di questi dalle commissioni medico legali.

In altre parole si può seguire nel tempo l'uso o meglio l'abuso di alcol esattamente come si fa per le sostanze stupefacenti.

È infatti dimostrato che per valori di *ETG* superiori a 30 pg/mg la determinazione indica con molta probabilità un abuso di alcol superiore a 60 gr/die; valori inferiori, ma presenti, indicano un uso moderato che potrebbe rientrare nella categoria dei fruitori consapevoli delle sostanze alcoliche.

I *FAEE* inoltre possono individuare nel tempo anche i vecchi assuntori delle suddette sostanze soprattutto se nella analisi si trovano quantità discrete di *etiloleato*.

Detto ciò passiamo ai marcatori più comuni e più o meno noti ed efficaci.

Iniziamo con la YGT

La vecchia *YGT* è, e rimane, uno dei marcatori tra i più efficaci dell'abuso alcolico in presenza sia di danno epatico che anche senza danno epatico.

Essa viene indotta dall'alcol e dai suoi metaboliti ed i suoi livelli sierici rimangono alterati per almeno 20-30 giorni.

Purtroppo pur essendo molto sensibile è altrettanto molto aspecifica.

Questo enzima ed i suoi isoenzimi (o isoforme che si voglia dire), infatti, possono incrementare aspecificamente con uso di farmaci o tossici enzimoiducanti (del complesso P450), patologie epatiche non alcol correlate, alcune patologie extraepatiche rilevabili (vedi tramite isoforme) e chiaramente anche in danni epatici alcol dipendenti.

Se è pur vero che l'anamnesi clinica e la strumentazione diagnostica oggi è in grado di differenziare l'origine delle patologie su indicate è altrettanto vero che non sempre questa procedura senza un laboratorio capace ed attrezzato può dare risultati veritieri.

Per questi motivi principali che ne limitano l'uso nella diagnostica differenziale essa viene oggi usato principalmente nel verifica della desuefazione degli etilisti.

Isoenzimi della YGT

Lo studio elettroforetico della *YGT* presenta mediamente 5 isoforme (*YGT1-YGT 5*) e nel soggetto sano, sono presenti soprattutto le frazioni *ISO YGT 2* e *ISO YGT 3* mentre in casistica patologica sono evidenti le isoforme 1, 4 e 5.

Negli etilisti tende ad essere presente a valori più alti la frazione 2 (epatico biliare e pancreatica) per induzione alcolica ed un rapporto diverso tra isoforme 2 e 3.

MCV

Un incremento del volume cellulare medio (*MCV*) si verifica nel 65-90% degli etilisti cronici ed è determinato

dall'effetto dell'alcol sulle membrane cellulari (formazione di esteri etilici degli acidi grassi contenuti nei trigliceridi di membrana) che porta a maggior fluidità della membrana stessa e quindi a dilatazione e interferenza dell'alcol sullo assorbimento intestinale e sul metabolismo dell'acido folico.

Ma anche in questo caso la specificità è ridotta dalla ossibilità di falsi negativi (iposideremia, microcitemie, le *malattie croniche* come celiachia, infezioni, collagenopatie e neoplasie) e falsi positivi (carenza di vit. B12 e folati, anemie macrocitarie, ecc.).

Ora se invece associamo la valutazione combinata di YGT e l'MCV in mancanza di altri parametri la specificità sale ad oltre il 90% quindi in mancanza di altro l'abbinamento dei parametri suddetti potrebbe anche essere utilizzato in diagnostica differenziale.

Tale dato è propedeutico per chi non ha a disposizione un laboratorio attrezzato ma andrebbe confermato da una valutazione di un centro regionale di tossicologia a meno che non si abbiano sufficienti dati clinici obbiettivi e/o una storia clinica pregressa provata.

ALDH (aldeide deidrogenasi) e ADH (alcol deidrogenasi)

Altro enzima, poco noto, ma efficace è la *Aldeide deidrogenasi eritrocitaria*.

Tale enzima risulta ridotto nei pazienti etilisti e tende a riportarsi nella norma solo dopo seria e prolungata astensione dall'alcol.

Quindi la sua determinazione risulta efficace sia nel monitoraggio dell'abuso di alcol attivo che nel monitoraggio dello stato di astinenza.

Al contrario la *ADH (alcol deidrogenasi)* non è considerabile come marcatore della abuso alcolico recente ma solamente come ottimo marcatore dei danni epatici da alcol e non solo. Ricordiamo che anche la *GLDH (glutammico deidrogenasi)* è un buon marcatore della necrosi epatica per cui può, ove difficile trovare chi dosi i sopradetti, essere utilizzato come indice di necrosi epatica.

Questi, infatti, incrementano nel siero, insieme a AST ed ALT nelle maggior parti delle epatopatie alcoliche e non; ma la loro valutazione insieme a quella della AST è notevolmente diagnostica per il monitoraggio del danno epatico.

Il dolidocolo urinario

Francamente non sappiamo con quale meccanismo aumenti il dolidocolo urinario nei soggetti etilisti quello che sappiamo è che questo dato risulta particolarmente utile nella verifica dei neonati da madre etilista e nel controllo dei pazienti in desuefazione alcolica.

Non essendo molto utilizzato non si hanno molto dati in merito ma sicuramente avendo una emivita lunga sappiamo che i suoi valori si normalizzano mediamente dopo due settimane dalla astinenza alcolica.

Addotti proteici

Gli addotti proteici, in realtà sono delle proteine, che tendono a legare molecole metaboliche dell'alcol ed in particolare la acetaldeide di derivazione etilica con legami più o meno stabili (da amminico ad imminico), per cui anche se probabilmente ottimi indicatori la loro scarsa stabilità ne compromette un uso su larga scala.

Tali proteine sono principalmente l'emoglobina, l'actina, la spectrina, ecc.; ma quella più utilizzata è certamente l'emoglobina.

Infatti l'acetaldeide risulta almeno 10 volte più concentrata negli eritrociti che non sul siero ma difficoltà di dosaggio e la scarsa stabilità nel tempo ne fanno un campo a tutt'oggi di ricerca ma scarsamente fruibile.

Uso delle isomorfe della AST (GOT)

Anche se, come nel caso precedente, le difficoltà di esecuzione delle suddette analisi sono di un certo livello; la semplice determinazione della *AST(GOT)* totale anche nel rapporto con la *ALT (GPT)* risulta piuttosto aspecifica per la diagnostica laboratoristica degli etilisti, quindi la determinazione delle isoforme viene spesso riservata più a studi in centri specializzati per le valutazioni epatiche.

Infatti, pur essendo la sua utilità elevata nel 92% degli etilisti, però si può presentare alterata anche ed oltre il 50% degli epatopatici.

Tale aspecificità viene limitata dallo studio del rapporto tra *GOT m (isoforma mitocondriale)* e *GOT totale*, rapporto che, invece, assume un significato diverso in quanto tanto più alta è l'isoforma mitocondriale tanto più probabile è che il danno sia di origine alcolica.

In tali condizioni la specificità che era mediamente del 50% può raggiungere e superare il 70-75% e relegare solo al 25% quella attribuibile alle patologie epatiche non alcol dipendenti.

Quindi lo studio degli isoenzimi o che si voglia dire isoforme potrebbe avere un suo spazio di utilità nella valutazione sia del danno che della astinenza raggiunta a breve e medio termine.

Valutazione della mallonildialdeide

La mallonildialdeide deriva dalla perossidazione lipidica indotta sulle membrane plasmatiche dai derivati metabolici ossidati dell'alcol (perossidi, etossidi, acetaldeide, ecc.).

Essa risulta più elevata in tutti gli etilisti, sia senza che con danno epatico, ma essendo un prodotto epatico essa, in presenza di un danno funzionale grave tende ad abbassarsi.

Risulta quindi piuttosto utile in una valutazione funzionale biochimica del danno epatico da alcol.

Beta-esosaminidasi e suoi isoenzimi

La beta-esosaminidasi è un enzima tipico delle cellule epatiche (epatociti) ma in particolare molto presente nelle cellule non parenchimali (cellule dei capillari endoteliali, di Kupffer, ecc.).

Un suo incremento nel sangue ha il significato soprattutto di inizio di lesione epatica o anche solamente di problematiche di flusso soprattutto biliare.

La sua utilità è più rivolta a varie altre patologie e/o stati fisiologici come epatiti, ipertensioni, diabete, tireotossicosi, ecc. o anche semplicemente gravidanze.

Però è pure utile nello screening e nella valutazione dei forti bevitori, ove il suo incremento è indice di inizio di abuso reale.

In altre parole è un buon marcatore (superiore anche alla YGT) per individuare che beve pesantemente (incremento) e chi invece sta realmente entrando in astinenza.

Infatti mentre l'incremento è correlato all'abuso, dopo un controllo di una settimana di decremento, diventa un buon indicatore di desuefazione.

Altrettanto utili sono le informazioni che fornisce il comportamento dell'isoenzima B che aumenta rapidamente negli alcolisti, individuando un consumo abusivo recente e, con un tempo molto breve di rientro (2-4) giorni, un controllo repentino sulla assenza di abuso.

L'idrossitriptololo (5 HTLOL)

L'idrossitriptololo è in rapporto molare con l'acido 5 idrossiindolacetico (HIAA) ed entrambi sono prodotti finali escretivi della serotonina.

L'uso di alcol, ma ancora di più l'abuso di questo sposta il rapporto molare, normalmente a favore della 5 HIAA, verso una maggiore produzione di 5 HTLOL e tale spostamento è direttamente proporzionale alla quantità di alcol utilizzata.

Il vantaggio di questo dato è che permane stabile per diverse ore anche dopo che il livello ematico del alcol è tornato a 0 un eventuale anche singolo eccesso di assunzione alcolica.

Purtroppo esistono anche interferenze genetiche o diete che alterano i rapporti tra 5 HTLOL e 5 HIAA ma si è stabilito che il cut off di HTLOL/HIAA maggiore di 20 corrisponde ad una assunzione recente di alcol maggiore di almeno 20 gr/die.

Tale dato, pur non essendo, attendibile come l'etanolemia ci permette però di ipotizzare un consumo recente di almeno 2 UA di alcol che di solito corrisponde ad un valore maggiore di 0.5 gr/l limite dell'art 187 per valutazioni quanto meno giornaliere.

Ultimo marcatore è forse il più noto ed utilizzato nella valutazione a medio termine dell'abuso alcolico: **la CDT o transferrina desializzata**.

Tralasciando tutta la biochimica e fisiologia di tale molecola ricordiamo solamente che la transferrina, molecola trasportatrice di ferro, esiste in ben 8 isoforme ma che normalmente nel sangue sono reperibili e dosabili solamente

5-6 isoforme ed esattamente la 2 (0,3-1,7%), la 3 (2-5%), la 4 (65-80%), la 5 (13-18%) e la 6 (0,5-3,5%); inoltre, esiste, ma è scarsamente visibile e dosabile anche la asialo cioè la proteina senza gruppi neuroamminici.

Detto ciò, si individua la associazione 0 + 2 sialo, come transferrina desialata (CDT) tale dato quando supera a seconda del metodo l'1,7% o il 2% viene considerato come indicatore di abuso alcolico superiore agli 50-80 gr/die (mediamente 60 gr/die).

Tale affermazione deriva dal fatto che l'alcol e ancor di più il suo metabolita acetaldeide interferisce nella reazione enzimatica di glicosilazione della proteina (sializzazione proteica) aumentando la percentuale di CDT sialoproteina presente nel sangue.

Tale fenomeno tende a normalizzarsi, verso valori inferiori allo 1,7-2,2% (a seconda delle metodiche applicate) solo mediamente dopo 14-28 giorni quindi sembrerebbe il marcatore ideale per il controllo degli etilisti.

Ma non è proprio così, infatti, anche la CDT ha i suoi bei limiti e vediamo di elencarli in ordine di importanza.

Intanto è certamente più specifica ma meno sensibile della YGT e poi non è raro trovarsi di fronte a falsi positivi specialmente in alcune patologie.

Infatti alterazioni della CDT possono essere dovute non ad eccesso di abuso alcolico ma ad altri fattori tra cui ricordiamo principalmente:

- epatopatie acute e croniche (cirrosi, steatosi, epatiti virali, ecc.);
- anemie (ipertrasferrinemie);
- uso di anticoncezionali;
- alcune malattie neurologiche;
- SDG (sindrome genetica da deficit di sialil trasferasi (valori > 10-12%);
- trapianti renali e pancreatici;
- varianti genetiche (calcolo per interpolazione);
- squilibri estrogenici.

D'altra parte è pure vero anche il contrario e cioè sottostime sono possibili come nelle ipersideremie con ipotrasferrinemia, in alcune varianti genetiche (veramente quasi tutte).

Infatti succede che, l'allele variato geneticamente, spostandosi, sul tempo di migrazione della 3 sialo o a volte della 4 sialo dimezzando, più o meno il suo reale valore.

In tali casi si tende a raddoppiare empiricamente e molto teoricamente il primo picco ottenendo spesso valori falsati.

In questi casi sarebbe preferibile ricorrere alla determinazione dell'ETG urinario seriale (per 1 volta in tre settimane consecutive) o ancora meglio al fosfatidiletanololo sia nel siero o nelle urine.

Sarebbe inoltre possibile eseguire quello su matrice cheratinica, oggi abbastanza comune, per chi ha a disposizione un laboratorio competente.

A questo punto è chiaro che un solo marcatore perfetto per il controllo e il monitoraggio dell'uso o abuso di alcol non esista per cui visto quanto sopra sarebbe auspicabile l'uso di più marcatori mirati allo scopo che ci prefiggiamo.

Inoltre, chiaramente la clinica sovrasta tutto e tutti i metodi e soprattutto oltre al laboratorio, le analisi strumentali possono pure dare il loro contributo decisamente importante nel chiarire vari dubbi diagnostici.

Tab. 1 - Quantità di alcol e apporto calorico di alcune bevande alcoliche

Bevanda alcolica	Misura standard	Quantità (ml)	Contenuto di alcol (g)	Apporto calorico (kcal)	Unità alcoliche (U.A.)
Vino da pasto (12 gradi)	1 bicchiere	125	12	84	1
Vino da pasto (11 gradi)	1 bicchiere	125	11	77	0,9
Vino da pasto (13,5 gradi)	1 bicchiere	125	13	91	1,1
Birra normale (4,5 gradi)	1 lattina	330	12	100	1
Birra doppio malto (8 gradi)	1 boccale	200	12	170	1
Vermouth dolce (16 gradi)	1 bicchierino	75	10	113	0,8
Vermouth secco (19 gradi)	1 bicchierino	75	10	82	0,8
Porto, aperitivi (20 gradi)	1 bicchierino	75	12	115	1
Brandy, cognac, grappa, rhum, vodka, whisky (40 gradi)	1 bicchierino	40	13	94	1,1

Tab. 2 - Valori indicativi di alcolemia (gr di alcol per litro di sangue) in funzione della quantità di alcol ingerito (espressa in U.A.) e del tempo trascorso dall'ingestione (in condizioni di digiuno)

U.A.	Ore dall'assunzione (uomini)					U.A.	Ore dall'assunzione (donne)				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
1	0,13	0,01	0	0	0	1	0,23	0,10	0	0	0
2	0,38	0,26	0,14	0,02	0	2	0,57	0,45	0,33	0,21	0,09
3	0,63	0,51	0,39	0,27	0,15	3	0,92	0,79	0,67	0,56	0,44
4	0,88	0,76	0,64	0,52	0,40	4	1,26	1,14	1,02	0,91	0,78
5	1,13	1,01	0,89	0,77	0,65	5	1,61	1,49	1,37	1,25	1,1

I valori riportati sono calcolati prendendo in considerazione un peso di 70 kg per l'uomo e di 60 kg per la donna. L'assunzione durante i pasti determina una diminuzione dell'alcolemia pari ad una U.A. Per ottenere i valori raggiungibili dopo i pasti bisognerà quindi diminuire di una unità il numero complessivo di U.A. ingerite.

La formula usata tiene conto del volume di alcol introdotto, del volume di acqua corporea e della capacità dell'organismo di eliminare l'alcol.

Tab. 3 - Calcolo teorico approssimativo dell'etanolo ingerito dal tasso etanologico

C_p (concentrazione etanologica ematica espressa in grammi litro) **uguale a D** (dose in grammi assunta) **diviso Vd** (volume di distribuzione in litri dato dalla formula 0,53 x peso in kg).

Esempio. In un uomo di 70 kg con tasso ematico di 80 mg/dl avremo che:

$C_p = 80 \text{ mg/dl}$, cioè 800 mg/l ovvero 0,8 gr/l

$V_d = 0,53 \times 70 = 37,1 \text{ l}$

Essendo $D = C_p \times V_d$ avremo che l'uomo ha ingerito $0,80 \times 37,1$ di alcol cioè 29,68 gr cioè 30 gr di alcol, e quindi da tabella avrà bevuto:

2 bicchieri e mezzo di vino ovvero 2 bicchieri da 330 di birra ovvero mezzo bicchiere di whisky.

Come risalire al tasso ematico massimo approssimativo sapendo l'intervallo di tempo trascorso

Si può risalire, entro le 4-6 ore dall'assunzione, al tasso ematico massimo, sommando al tasso trovato per le ore, moltiplicando per il coefficiente metabolico dell'alcol.

Esempio. Si sono trovati 50 mg/dl a 4 ore dal pasto o dall'assunzione per cui avremo:

$50 + (4 \times 15) = 50 + 60 = 110 \text{ mg/dl}$ tasso alcolemico massimo.