



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



BIOMARCADORES DEL CONSUMO DE ALCOHOL Y SU RELACIÓN CON LA DOSIS

TESIS DOCTORAL

Julian Andrés Mateus Rodríguez

Directores:

Magí Farré Albaladejo Francina Fonseca Casals Clara Pérez Mañá

Departamento de Farmacología, de Terapéutica y de Toxicología

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Barcelona

Julio de 2019



BIOMARCADORES DEL CONSUMO DE ALCOHOL Y SU RELACIÓN CON LA DOSIS

Memoria presentada por Julián Mateus Rodríguez para optar al título de Doctor
en Medicina

Programa de Doctorat en Farmacologia

Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia

Universitat Autònoma de Barcelona

Firma Directors:

Magí Farré Albaladejo

Francina Fonseca Casals

Clara Pérez Mañá

Firma Doctorand: Julian Andrés Mateus Rodríguez

Universitat Autònoma de Barcelona

Julio de 2019



Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia

Magí Farré Albaladejo, Catedrático de Farmacologia del Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia de la Universitat Autònoma de Barcelona, Francina Fonseca Casals, Profesora associada del Departament de Psiquiatria de la Universitat Autònoma de Barcelona y Clara Pérez Mañá, Profesora associada del Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicología de la Universitat Autònoma de Barcelona.

HACEN CONSTAR:

Que la memoria presentada por Julian Andrés Mateus Rodríguez con título “Biomarcadores del consumo de alcohol y su relación con la dosis”, ha sido realizada bajo su dirección. La memoria reúne las condiciones para ser presentada para optar al grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos firmo el presente certificado a Barcelona, a 19 de Julio de 2019.

Prof. Magí Farré Albaladejo

Prof. Francina Fonseca Casals

Prof. Clara Pérez Mañá

A Yani y Emilia

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que han estado junto a mí durante estos últimos 5 años, dándome su apoyo y brindándome su amistad para llevar a término esta tesis.

En primer lugar, a mis directores, por confiar en mí y permitirme realizar junto a ellos este trabajo experimental. Al Dr Magí Farré, por compartir conmigo su sabiduría y por motivarme desde mi periodo de residencia a realizar esta tesis Doctoral. A la Dra Clara Pérez, por todos sus conocimientos brindados, por su gran disponibilidad y paciencia para apoyarme en todo momento- A la Dra Francina Fonseca, por depositar en mí su confianza y autonomía durante todo este proceso. Al coordinador del grupo de Investigación de Farmacología Integrada y Neurociencia de Sistemas (FINS), el Dr Rafael de la Torre, por todas las facilidades prestadas durante el desarrollo de este proyecto. A todos mis antiguos compañeros de la URC, Esther Papaseit, Esther Menoyo, Marta Pérez, Soraya Martín, Clara Gibert quienes con su ayuda desinteresada hicieron posible este estudio, y también a los nuevos, Ana Aldea, Iris Matilla, Patricia Díaz, con quien he podido compartir nuevas experiencias, gracias por su ayuda en el día día. A Klaus Langohr por su ilimitada paciencia, por las constantes consultas realizadas para los análisis de datos. A todo el personal de laboratorio Mitona Pujadas, Anna Boronat, Jordi García por toda su ayuda con el gran número de muestras generadas, y a todos los que han formado parte de mi vida en estos años y que han dejado huella en mí como Joan Mestre, Aida Cuenca, Laura Forcano, Neus Pizarro, Natalia Soldevila, con los que me divierto tanto y que sin ellos mi vida en el IMIM seguro que no sería la misma. A mis amigos de siempre, y tantos otros que no cabrían en esta página. A mi familia, sobre todo, con todo mi corazón, a mis incondicionales de siempre a mi madre, a mi padre, a Yani, y a la recién llegada Emilia, gracias por estar junto a mí siempre y haberme apoyado en todo momento, no sabéis lo que significan para mí todos estos años de cariño y apoyo.

ÍNDICE

1	RESUMEN	1
2	LISTADO DE ABREVIATURAS	7
3	INTRODUCCIÓN	9
3.1	Consumo alcohol en España	9
3.1.1	Mecanismo de acción, efectos farmacológicos y tóxicos	14
3.1.1.1	Complicaciones y trastorno por consumo de alcohol	15
3.1.1.2	Intoxicación por alcohol	18
3.1.2	Impacto del género y el tabaco en el metabolismo del alcohol	21
3.1.3	Farmacocinética del alcohol	23
3.1.4	Metabolismo oxidativo del alcohol	25
3.1.4.1	Vías oxidativas del metabolismo del alcohol	25
3.1.5	Metabolismo no oxidativo del alcohol	28
3.1.6	Biomarcadores del consumo de alcohol	30
3.1.6.1	Biomarcadores Directos	32
3.1.6.2	Biomarcadores Indirectos	36
4	JUSTIFICACIÓN	41
5	HIPÓTESIS	43
6	OBJETIVOS	45
7	MÉTODOS	47
7.1	PROYECTO Y FINANCIACIÓN	47
7.1.1	Diseño	48
7.1.2	Condiciones de tratamiento	49
7.1.3	Sujetos	52
7.1.4	Criterios de inclusión y exclusión	53
7.1.4.1	Cálculo del tamaño muestral	55
7.1.5	Variables	56
7.1.5.1	Métodos analíticos	58
7.1.6	Requerimientos del estudio	58
7.1.7	Desarrollo del estudio y de las sesiones experimentales	59
7.1.8	Métodos de análisis de las muestras	68
7.1.9	Análisis estadístico	69
8	RESULTADOS	73
8.1	RESULTADOS VARIABLES FARMACOCINÉTICAS	73

8.1.1	Características de los participantes y presentación de resultados.	73
8.1.2	Dosis de alcohol vs. Dosis ajustada al peso	80
8.1.3	Concentraciones plasmáticas	81
8.1.3.1	Concentraciones de alcohol en sangre	81
8.1.3.2	Concentraciones de Etilsulfato	86
8.1.3.3	Concentraciones de Etilglucurónido	91
8.1.3.4	Concentraciones de Etil palmitato	96
8.1.3.5	Concentraciones de Etil linoleato	101
8.1.3.6	Concentraciones de Etil oleato	106
8.1.3.7	Concentraciones de Etil estearato	111
8.1.3.8	Concentraciones de Etil araquidonato	116
8.1.3.9	Concentraciones totales de Ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs)	121
8.2	Concentraciones en Orina	126
8.2.1	Concentraciones de Etilsulfato en orina	126
8.2.2	Concentraciones de Etilglucurónido en orina	131
8.3	Variables fisiológicas	137
8.3.1	Presión Arterial (PA)	137
8.3.1.1	Presión Arterial Sistólica (PAS)	137
8.3.1.2	Presión Arterial Diastólica (PAD)	142
8.3.1.3	Frecuencia cardíaca (FC)	147
8.3.1.4	Temperatura oral (T°)	152
8.3.2	Variables subjetivas y emocionales	157
8.3.2.1	Escala Analógica Visual (EAV) “embriagado”(borracho)	158
8.3.2.2	Método Bland- Altman	165
8.3.2.2.1	Interpretación análisis Bland Altman	167
8.3.2.3	BAES “Efectos Estimulantes”	171
8.3.2.4	BAES “Efectos Sedantes”	175
8.3.2.5	Cuestionario de valoración de efectos subjetivos del Addiction Research Center Inventory (ARCI)	179
8.3.2.6	Cuestionario de valoración de efectos subjetivos de sustancias con potencial de abuso (VESSPA)	179
8.3.3	Correlación entre las concentraciones de los biomarcadores de alcohol no oxidativos y las concentraciones de alcohol	180
8.3.3.1	Correlación entre concentraciones totales de FAEEs en plasma y concentraciones de EtG y de EtS en plasma ajustados con concentración de albúmina	181

8.3.3.2	Correlación entre concentración de alcohol y concentraciones de EtG y de EtS en Orina _____	182
8.3.3.3	Correlación entre concentraciones de alcohol y concentraciones de los distintos FAEEs _____	184
8.3.3.4	Correlación entre las concentraciones de triglicéridos y concentraciones totales de los FAEEs _____	185
8.3.4	Acontecimientos adversos _____	186
9	DISCUSIÓN _____	187
9.1	Farmacocinética del alcohol _____	190
9.2	Dosis de alcohol seleccionadas _____	192
9.3	Sujetos seleccionados _____	195
9.4	Biomarcadores no oxidativos en plasma _____	196
9.4.1	<i>Esteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs)</i> _____	196
9.4.2	Etilglucurónido (EtG) y Etilsulfato (EtS) _____	200
9.4.3	Excreción en orina del Etilglucurónido (EtG) y del Etilsulfato (EtS) 203	
9.5	Efectos subjetivos _____	205
9.5.1	Cambios en la EAV embriaguez “borrachera” _____	205
9.5.2	Cuestionario de Identificación de dosis _____	208
9.5.3	Cambios en los efectos bifásicos del alcohol (BAES) _____	208
9.5.4	Efectos fisiológicos _____	210
9.6	Fortalezas y limitaciones _____	211
9.7	Futuros estudios _____	213
10	CONCLUSIONES _____	215
11	ANEXOS _____	217
12	BIBLIOGRAFÍA _____	219

1 RESUMEN

Introducción

La detección de biomarcadores del consumo de alcohol es una herramienta útil para prevenir la aparición de problemas sociales y de salud relacionados con la ingesta del mismo. El consumo de alcohol puede monitorizarse mediante la detección de biomarcadores. En la práctica habitual se utilizan biomarcadores indirectos (volumen corpuscular medio, transaminasas, gammaglutamiltranspeptidasa o la transferrina deficiente en carbohidratos), aunque existen también biomarcadores directos del consumo de alcohol, entre ellos el propio alcohol y sus metabolitos. Entre los últimos, los biomarcadores no oxidativos del etanol como el etilglucurónido (EtG), el etilsulfato (EtS) y los ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs) en diferentes matrices biológicas permiten un mejor control del consumo. En común estos metabolitos tienen una semivida de eliminación más larga que la del etanol, lo que les permite detectarse a lo largo de horas-días, según la cantidad de alcohol ingerida y el metabolito concreto. En este proyecto de Tesis se pretende conocer y realizar un estudio más completo de la relación entre la dosis de alcohol y las concentraciones de biomarcadores no oxidativos y evaluar los mismos en poblaciones específicas (adultos consumidores de bajo riesgo) y con una perspectiva de género.

Métodos

Se realizó un ensayo clínico de farmacocinética, en voluntarios sanos, simple ciego, no aleatorizado con una condición de tratamiento por sujeto de entre cuatro posibles, que contienen 20 g, 40 g, 60 g y 80 g de alcohol. En total participaron 53 sujetos de ambos géneros (15 para cada dosis de 20, 40 y 60 g, y 8 para la dosis de 80 g). Como criterio de inclusión los participantes debían tener un consumo de al menos 1 UBE/día (acumulada semanal) y experiencia en borracheras. Se determinaron en sangre concentraciones de

RESUMEN

etanol, etilglucurónido (EtG) y etilsulfato (EtS), y de cuatro FAEEs (palmitato, linoleato, oleato y estearato). Se determinaron en orina el EtG y el EtS. Adicionalmente, se determinaron los efectos fisiológicos, subjetivos y tolerabilidad del alcohol. Además, se determinaron las concentraciones de alcohol y sus respectivos metabolitos en plasma y orina. Los efectos fisiológicos incluyeron la medición de presión arterial, frecuencia cardíaca y temperatura oral.

Los efectos subjetivos de las diferentes dosis de alcohol se evaluaron mediante cuestionarios como escalas analógicas visuales EAV, ARCI (Addiction Research Center Inventory-49 item short form, BAES (Bifasic Alcohol Effects Scale), VESSPA (Valoración de Efectos Subjetivos de Sustancias con Potencial de Abuso), y un cuestionario de identificación de dosis.

Resultados

Con respecto a las diferentes dosis de alcohol para los diferentes biomarcadores no oxidativos se observó que la concentración máxima (C_{max}) aumentaba siguiendo una relación lineal, mientras que el área bajo la curva (AUC) dejó de ser lineal a dosis elevadas. Los periodos de detección de los biomarcadores no oxidativos fueron más prolongados que para el alcohol. Se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre géneros en el área bajo la curva de las concentraciones de alcohol de 0 a 10h (AUC10h) siendo más alta en las mujeres que en los hombres para las 3 dosis que fueron comparadas. En la excreción urinaria del EtG y del EtS se observó que el incremento en el AUC era mayor a medida que aumentaba la dosis de alcohol, en ambos géneros, detectándose las concentraciones hasta las 48h post-administración con las dosis altas. Con respecto a los efectos subjetivos se observaron importantes diferencias interindividuales con las diferentes dosis.

Conclusiones

El AUC de los distintos biomarcadores no oxidativos del alcohol (FAEEs, EtG y EtS) siguió una relación no lineal con la dosis de alcohol, a diferencia de lo observado con la C_{max} de la alcoholemia. Los metabolitos de los (FAEEs, Etg y Ets) en plasma se detectaron hasta las 10h post administración, mientras que en orina los metabolitos del Etg y el Ets se detectaron hasta las 48 horas. Se encontraron diferencias entre géneros tanto en las concentraciones de alcohol y metabolitos como en los efectos (generalmente superiores en las mujeres)

ABSTRACT

Introduction

The detection of biomarkers of alcohol consumption is a useful tool to prevent the emergence of social and health problems related to alcohol intake. Alcohol consumption can be monitored by detecting biomarkers. Indirect biomarkers (mean corpuscular volume, transaminases, gammaglutamyltranspeptidase or carbohydrate-deficient transferrin) are used in common practice, although there are also direct biomarkers of alcohol consumption, including alcohol itself and its metabolites. The non-oxidative biomarkers of ethanol such as ethyl glucuronide (EtG), ethyl sulphate (EtS) and fatty acid ethyl esters (FAEEs) in different biological matrices provide better control of consumption. In the same way, these metabolites have a longer elimination half-life than ethanol, which can be detected along days-hours, in relation to the amount of alcohol ingested and the specific metabolite. The aim of this thesis project is to know and carry out a more complete study of the relationship between alcohol dose and non-oxidative biomarker concentrations and to evaluate these in specific populations (low-risk adult consumers) from a gender perspective.

Methods

A single-blind, non-randomized, pharmacokinetic clinical trial was conducted on healthy, volunteers with one treatment condition per subject between of four possible, containing 20 g, 40 g, 60 g, and 80 g of alcohol. A total of 53 subjects of both genders participated (15 for each dose of 20, 40 and 60 g, and 8 for the 80 g dose). For inclusion the participants were required to have an intake of at least 1 standar drink unit/day (accumulated weekly) and previous drunken experience. Blood concentrations of ethanol, ethyl glucuronide (EtG) and ethyl sulfate (EtS), and four FAEEs (palmitate, linoleate, oleate and stearate) were determined. EtG and EtS were determined in urine. Additionally, the physiological, subjective and tolerability effects of alcohol were determined. In addition, alcohol concentrations and their respective metabolites in plasma and urine were determined. Physiological effects included measurement of blood pressure, heart rate and oral temperature.

The subjective effects of the different doses of alcohol were evaluated by several questionnaires such as visual analogue scales EAV, ARCI (Addiction Research Center Inventory-49 item short form, BAES (Bifasic Alcohol Effects Scale), VESSPA (Subjective Effects Assessment of Substances with Abuse Potential), and a dose identification questionnaire.

Results

It was observed that the maximum concentration (C_{max}) increased following a linear relationship, while the area under the curve (AUC) was not linear at high doses. The time periods for detection of non-oxidative biomarkers were longer than for alcohol. Statistically significant gender differences were found in the area under the curve of alcohol concentrations from 0 to 10h (AUC10h) being higher in women than in men for the 3 doses that were compared. In the urinary excretion of EtG and EtS it was observed that the increase in the AUC was greater as the dose of alcohol increased, in both genders, being detected

RESUMEN

the concentrations until 48h post-administration with high doses. There were considerable differences between individuals with different doses.

Conclusions

The AUC of the different non-oxidative alcohol biomarkers (FAEEs, EtG and EtS) followed a non-linear relationship with the alcohol dose, in contrast to what was observed with the C_{max} of alcohol. The metabolites of the (FAEEs, Etg and Ets) in plasma were detected until 10h post-administration, while in urine the metabolites of EtG and EtS were detected until 48 hours. Gender differences were found in both alcohol and metabolite concentrations and effects (generally higher in women).

RESUMEN

2 LISTADO DE ABREVIATURAS

AA	Acontecimiento adverso
ADH	Alcohol deshidrogenasa
AEAT	Acil-CoA/etanol O-acil-transferasa
ALDH	Aldehído deshidrogenasa
ANOVA	Análisis de la varianza
AUC	Área bajo la curva
AUDIT	Cuestionario de identificación de los trastornos debidos al consumo de alcohol
BAC	Concentraciones de Alcohol en Sangre
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
C_{max}	Concentración máxima
CDT	Transferrina deficiente en carbohidratos
CoA	Coenzima A
CT	Curso temporal
DE	Desviación estándar
DGT	Dirección general de tráfico
DSM-5®	Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales, 5ª edición.
ECG	Electrocardiograma
EECC	Ensayo clínico
ELISA	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzima
E_{max}	Efecto máximo
EtG	Etilglucurónido
EtS	Etilsulfato
FAEEs	Ésteres etílicos de ácidos grasos
FC	Frecuencia cardíaca
FIS	Fondo de Investigación Sanitaria
GABA	Ácido γ-aminobutírico

LISTADO DE ABREVIATURAS

GCMS	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
GGT	Gamma-glutamilttransferasa
GOT	Glutamato oxalacetato transaminasa
GPT	Glutamato piruvato transaminasa
IC	Intervalo de confianza
IEA	Intoxicación Etilica Aguda
IMC	Índice de masa corporal
IMIM	Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques
LC/MS	Cromatografía líquida-espectrometría de masas
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
MEOS	Sistema microsomal oxidativo del etanol
NCT	National Clinical Trial
NIDA	National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PEth	Fosfatidiletanol
PNSD	Plan Nacional sobre Drogas
SNC	Sistema nervioso central
SULT	Sulfotransferasa
TG	Triglicéridos
t_{max}	Tiempo para alcanzar la concentración o efectos máximos
UBE	Unidad de bebida estándar
UGT	Uridina difosfato – glucoroniltransferasa.
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
VCM	Volumen corpuscular medio de los hematíes

3 INTRODUCCIÓN

3.1 Consumo alcohol en España

La palabra alcohol en este trabajo se refiere al alcohol etílico o etanol (CH₃OH). Según el Plan Nacional sobre Drogas (PNSD), el alcohol es la droga legal más consumida en España. En nuestro país el consumo de alcohol ha seguido tradicionalmente el patrón mediterráneo, hasta hace pocos años. Es decir, un consumo moderado de alcohol principalmente en forma de vino tinto y repartido a lo largo de las comidas (1). En el este de Europa típicamente se consumían más destilados y en el norte más cerveza. Sin embargo, los hábitos de consumo están cambiando del tradicional patrón de consumo estable y regular, hacia el consumo en atracón o *binge drinking*, caracterizado por una concentración del consumo durante los fines de semana con preferencia por la cerveza y los combinados. Se considera consumo en atracón *binge drinking* el consumo de 5 o más bebidas alcohólicas (si es hombre) o 4 o más bebidas alcohólicas (si es mujer) en la misma ocasión, es decir, seguidas o en un intervalo de dos horas. En la encuesta sobre alcohol y otras drogas en España (EDADES 2017) (2), el 91,2% de la población de 15 a 64 años declara haber consumido bebidas alcohólicas alguna vez en la vida, dato que confirma la extensión del consumo de esta sustancia en la población española. Sitúa la edad media de inicio en el consumo de alcohol entre los 16-17 años. En 2017, analizando el consumo de alcohol en el último año, tres de cada cuatro (75,2%) declaran haber bebido alcohol en alguna ocasión durante los últimos 12 meses previos a la realización de la encuesta, y cuando se les pregunta por el consumo en el último mes, la prevalencia se sitúa en el 62,7%. El 7,4% de la población de España declara mantener un hábito de consumo diario de alcohol. Atendiendo al género, el 93,6% de los hombres han consumido alcohol alguna vez en la vida, registrándose la máxima prevalencia para este tramo temporal entre los de 55 a 64 años (96,9%). Por su parte, entre las mujeres esta prevalencia se sitúa en el 88,8%, elevándose esta proporción hasta el

INTRODUCCIÓN

91,1% en el estrato de 45 a 54 años. Para los consumos en los últimos 12 meses, la prevalencia entre los hombres se sitúa en el 81,3%, alcanzando su máximo en el grupo de varones de 25 a 34 años (84,0%). Entre las mujeres, la prevalencia se reduce en 12,1 puntos (69,2%), elevándose hasta el 72,8% en el grupo de 15 a 24 años. En el caso de las mujeres, se reduce la proporción de consumidoras a medida que aumenta la edad. El 71,5% de los hombres declaran haber ingerido alguna bebida alcohólica en los últimos 30 días. En el caso de las mujeres, este porcentaje se reduce hasta el 54%. Finalmente, el 11,5% de los hombres declaran un consumo diario de alcohol, siendo esta proporción 3,5 veces superior a la que se da entre las mujeres (3,3%).

La encuesta estatal sobre uso de drogas en enseñanzas secundarias (PNSD, ESTUDES 2018), (3), se realiza en población de 14-18 años e incluyó en 2016/17 una muestra total de 35.369 estudiantes de 863 centros educativos públicos y privados y de 1.726 aulas. En este estudio la edad media de inicio en el consumo de alcohol estuvo entre los 14 años. El 75,6% de los encuestados admitieron haber consumido alcohol en los últimos 12 meses, el 67% en los últimos 30 días. No existen diferencias significativas por género en la edad de inicio del consumo. Además, el 31,7% reconoció haber consumido en atracón (*binge drinking*) alguna vez durante esos últimos 30 días. Un 21,8% reconoció haberse emborrachado alguna vez en los últimos 30 días. Las intoxicaciones etílicas (*borracheras*) fueron más frecuentes a mayor edad (18,8% en el último año a los 14 años y 61,5% en el último año a los 17 años). Además, más de la mitad de los estudiantes de entre 14 y 18 años admite haber hecho botellón en los últimos 12 meses (52,0%). Los lugares de consumo más frecuente fueron bares o pubs, discotecas y espacios públicos. El alcohol se obtuvo sobre todo en locales de ocio y supermercados, el 34,9% admitió obtener las bebidas alcohólicas ellos mismos. Con estos datos en España el consumo de alcohol tiene una gran

INTRODUCCIÓN

incidencia tanto en hombres como en mujeres, siendo uno de los países con mayor consumo per capita de alcohol, con 14,6 litros por persona y año.

Segun el último informe mundial de la Organización Mundial de la Salud (OMS)(4), se estima que un total de 3,3 millones de muertes cada año están relacionadas con el consumo de alcohol. El alcohol se considera un factor clave en más de 200 enfermedades. Es el tercer factor de riesgo para la salud (tanto para la aparición de enfermedades como para la muerte prematura) más importante, tras el consumo de tabaco y la hipertensión arterial. Como factor de riesgo para la salud es 3 veces más importante que la diabetes y 5 veces más importante que el asma. El alcohol es una sustancia con múltiples y complejos efectos sobre el comportamiento. Posee propiedades tanto estimulantes y euforizantes como sedantes, así como efectos placenteros o altamente desagradables que dependen de múltiples factores. La dosis, el tiempo transcurrido tras la ingesta, el consumo crónico o intermitente, los estímulos ambientales, las expectativas del individuo, su personalidad y su predisposición genética, entre otras, serán variables y condicionantes a tener en cuenta al estudiar la respuesta y las consecuencias neurobiológicas del consumo de alcohol.

La forma de poder cuantificar de forma sencilla y rápida la cantidad de alcohol que consume un individuo es mediante el uso de las unidades de bebida estándar (UBE). El valor de una UBE en España es de 10 gramos de alcohol puro, (Tabla 1) aunque este valor puede oscilar entre 8 y 13 gramos de alcohol puro según el país(5).

INTRODUCCIÓN

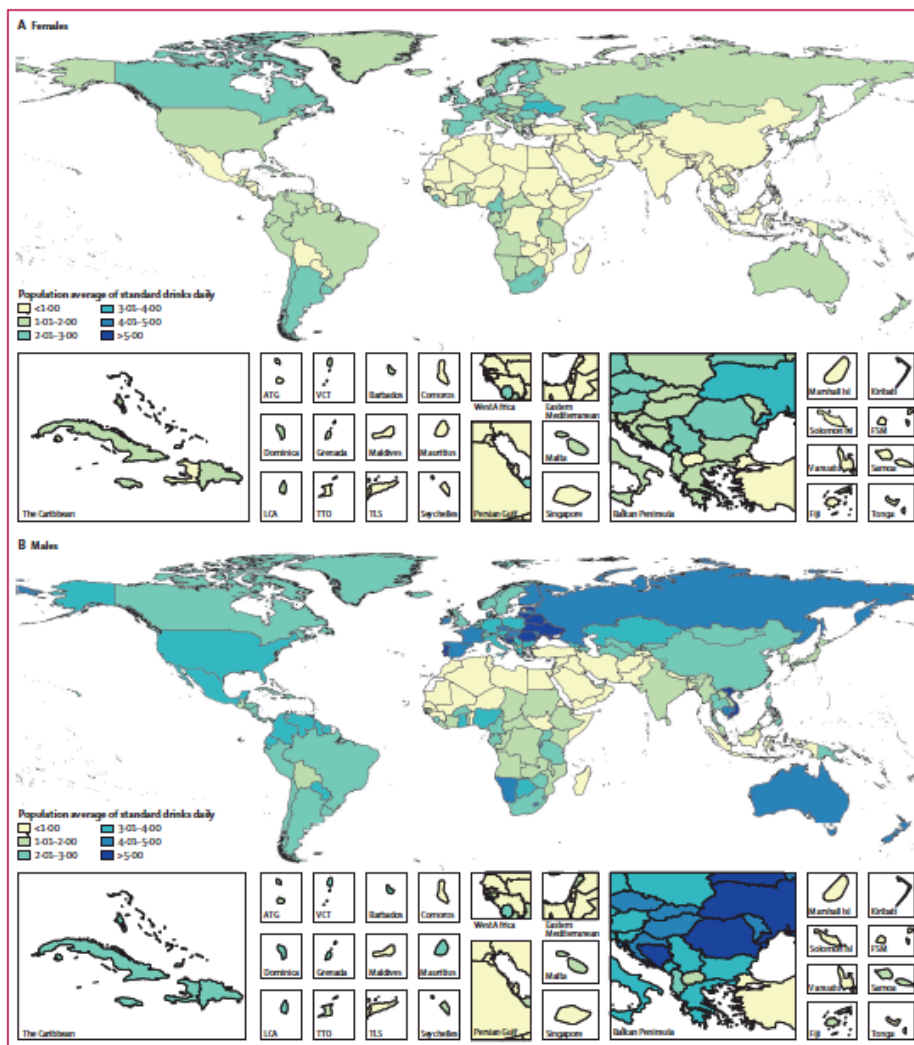
Tabla 1: UBE correspondientes a cada consumición (modificada de Silla Stoel M, Rosón Hernández)(6).

Bebida	Consumición habitual	Equivalencia en UBE
Cerveza (3°-5°)	1 quinto/caña (200 mL) 1 mediana (330 mL) 1 litro (1000 mL)	1 UBE 1,5 UBE 5 UBE
Vino, cava (12°-14°)	1 vaso (100 mL) 1 litro	1 UBE 10 UBE
Carajillo	25 mL	1 UBE
Vino dulce, Jerez, vermut (18°-20°)	1 copa (50 mL)	1 UBE
Destilados (40°-50°)	1 copa (50 mL) 1 combinado (50 mL)	2 UBE 2 UBE

A nivel mundial, la cantidad media de alcohol consumida entre los bebedores actuales en 2016 también difiere ampliamente por ubicación geográfica y género (figura 1). Las ubicaciones con un alto índice socio demográfico (ISD) tenían la media más alta de consumo de unidades de bebidas estándar (UBE) diario, con 1,9 UBE (95% UI 1,3-2,7) al día entre las mujeres y 2,9 UBE al día (2,0-4,1) entre los hombres. Las localidades con un ISD bajo tenían el promedio más bajo para los hombres, con 1,4 UBE al día (0,6-2,4) mientras que las ubicaciones del ISD de nivel bajo a medio tuvieron el promedio más bajo para las mujeres, con 0,3 (0,1-0,6) UBE al día.

INTRODUCCIÓN

Figura 1. Promedio de UBE (10 g de etanol puro) consumidos por día, estandarizados por edad, para mujeres (A) y hombres (B) en 2016, en 195 ubicaciones, (tomada de GBD 2016 Alcohol Collaborators con licencia Creative Commons Attribution [CC BY 4.0]) (5).



INTRODUCCIÓN

El consumo de riesgo es un patrón de consumo de alcohol que aumenta el riesgo de consecuencias adversas para la salud si el hábito del consumo persiste. La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo describe como el consumo regular de 20 a 40 g diarios de alcohol en mujeres y de 40 a 60 g diarios en varones (7), así como cualquier consumo en el caso de mujeres embarazadas, los menores de edad (<18 años) y personas con enfermedades y tratamientos que desaconsejen su consumo.

3.1.1 Mecanismo de acción, efectos farmacológicos y tóxicos

El alcohol (alcohol etílico, etanol) es un compuesto químico que se presenta como un líquido incoloro e inflamable con una temperatura de ebullición de 78,4 °C. Es el principal tipo de alcohol presente en las bebidas alcohólicas, como el vino (alrededor de un 13 %), la cerveza (5 %), los licores (hasta un 50 %) o los aguardientes (hasta un 70 %). Es miscible en agua en cualquier proporción. Su fórmula química semidesarrollada es CH₃-CH₂-OH (C₂H₆O) con un peso molecular de 46,07 g/mol. El alcohol es un depresor del SNC (8) que tiene múltiples lugares de acción en numerosas vías centrales de neurotransmisión, destacando su papel como un potente "fármaco sucio (con múltiples mecanismos de acción)" del SNC. Esta propiedad es debido a la acción del alcohol sobre diferentes neurotransmisores, incluyendo la estimulación del ácido gamma-aminobutírico (GABA), el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC, y la inhibición del glutamato, el principal neurotransmisor excitador a nivel del SNC. El alcohol potencia los efectos del GABA actuando directamente sobre sus receptores, aumentando sus efectos inhibitorios (9). Estos efectos inhibitorios incluyen sedación, pérdida de inhibiciones y relajación, y podrían estar relacionados con la producción de ciertos neuroesteroides, como la alopregnanolona. Su efecto inhibitorio gabaérgico, junto con la inhibición de ciertos receptores glutamatérgicos excitatorios, endocannabinoides, canales de calcio, principalmente a nivel

INTRODUCCIÓN

cerebeloso y proteínas hipocampales (ERKs) que son esenciales para la formación de la memoria, resulta en sedación, pérdida de inhibiciones, relajación, pérdida de las funciones cognitivas, déficit de atención, alteración de la regulación del sueño y de la vigilia (efecto de apagón), y el estado final de la depresión psicomotriz. Por otro lado, la acción excitadora del alcohol sobre los receptores μ del sistema opioide y la subsiguiente activación del sistema límbico por la dopamina y de los receptores 5-HT_{1B} por la serotonina dan como resultado el efecto de bienestar y elevación del estado de ánimo. Además, el alcohol ejerce sus propiedades reforzadoras mediante su acción sobre el sistema dopaminérgico, liberando dopamina en el núcleo accumbens (10,11). La disminución de la regulación de la dopamina y de los receptores GABA explica el aumento del consumo de alcohol y el consiguiente desarrollo de la dependencia química.

A dosis bajas el alcohol produce desinhibición y euforia mientras que a dosis moderadas-altas produce sedación. Los efectos subjetivos del alcohol (sensación de borrachera) dependen de la dosis, la tolerabilidad de cada individuo y del género. Las mujeres en general presentan mayor afectación tras el consumo de una misma dosis de alcohol (12). Además, el alcohol típicamente produce una alteración del rendimiento psicomotor y, en consecuencia, de la capacidad de conducir vehículos. Según la DGT en España para conductores no noveles la tasa de alcoholemia permitida en sangre es 0,5g/l y en aire espirado 0,25 mg/l, reduciéndose en conductores noveles a 0,3g/l y 0,15 mg/l, respectivamente.

3.1.1.1 Complicaciones y trastorno por consumo de alcohol

El consumo continuado de alcohol se acompaña de complicaciones graves y es una de las causas más importantes de mortalidad. Los grandes bebedores sufren una degeneración neurológica con demencia y neuropatías periféricas.

INTRODUCCIÓN

El alcohol es una sustancia tóxica asociada con más de 60 tipos de trastornos agudos y crónicos (13–15). Entre ellos se encuentran enfermedades neuropsiquiátricas, enfermedades gastrointestinales, enfermedades metabólicas y endocrinas, neoplasias malignas, enfermedades cardiovasculares, alteraciones perinatales entre otras. El alcohol produce intoxicación, adicción (trastorno por consumo, antes llamada dependencia), tolerancia y provoca un síndrome de abstinencia muy grave. Otros trastornos mentales asociados al alcohol son: trastornos psicóticos, trastornos bipolares, trastornos depresivos, trastornos de ansiedad, trastornos del sueño, disfunciones sexuales, síndrome confusional y trastornos neurocognitivos. El trastorno por consumo de alcohol es también muy frecuente en patología dual (16).

A continuación, se enumeran los criterios de diagnósticos de trastorno por consumo de alcohol, según el DSM-V.

Un modelo problemático de consumo de alcohol que provoca un deterioro o malestar clínicamente significativo y que se manifiesta al menos por dos de los hechos siguientes en un plazo de 12 meses:

1. Se consume alcohol con frecuencia en cantidades superiores o durante un tiempo más prolongado del previsto.
2. Existe un deseo persistente o esfuerzos fracasados de abandonar o controlar el consumo de alcohol.
3. Se invierte mucho tiempo en las actividades necesarias para conseguir alcohol, consumirlo o recuperarse de sus efectos.
4. Ansias o un poderoso deseo o necesidad de consumir alcohol.
5. Consumo recurrente de alcohol que lleva al incumplimiento de los deberes fundamentales en el trabajo, la escuela o el hogar.
6. Consumo continuado de alcohol a pesar de sufrir problemas sociales o interpersonales persistentes o recurrentes, provocados o exacerbados por los efectos del alcohol.

INTRODUCCIÓN

7. El consumo de alcohol provoca el abandono o la reducción de importantes actividades sociales, profesionales o de ocio.
8. Consumo recurrente de alcohol en situaciones en las que provoca un riesgo físico.
9. Se continúa con el consumo de alcohol a pesar de saber que se sufre un problema físico o psicológico persistente o recurrente probablemente causado o exacerbado por el alcohol.
10. Tolerancia, definida por alguno de los siguientes hechos:
 - a. Una necesidad de consumir cantidades cada vez mayores de alcohol para conseguir la intoxicación o el efecto deseado.
 - b. Un efecto notablemente reducido tras el consumo continuado de la misma cantidad de alcohol.
11. Abstinencia, manifestada por alguno de los siguientes hechos:
 - a. Presencia del síndrome de abstinencia característico del alcohol (véanse los Criterios A y B de la abstinencia de alcohol).
 - b. Se consume alcohol (o alguna sustancia muy similar, como una benzodiacepina) para aliviar o evitar los síntomas de abstinencia.

Los criterios diagnósticos de abstinencia de alcohol, según DSM-V, se enumeran a continuación.

Abstinencia

- A. Cese (o reducción) de un consumo de alcohol que ha sido muy intenso y prolongado.
- B. Aparecen dos (o más) de los signos o síntomas siguientes a las pocas horas o pocos días de cesar (o reducir) el consumo de alcohol descrito en el Criterio A:
 1. Hiperactividad del sistema nervioso autónomo (p. ej. Sudoración o ritmo del pulso superior a 100 lpm).
 2. Incremento del temblor de las manos.

INTRODUCCIÓN

3. Insomnio.
4. Náuseas o vómitos.
5. Alucinaciones o ilusiones transitorias visuales, táctiles o auditivas.
6. Agitación psicomotora.
7. Ansiedad.
8. Convulsiones tonico-clónicas generalizadas.

C. Los signos o síntomas del Criterio B provocan un malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento.

D. Los signos o síntomas no se pueden atribuir a otra afección médica y no se explica mejor por otro trastorno mental, incluida la intoxicación o abstinencia por otra sustancia.

3.1.1.2 Intoxicación por alcohol

Dado que en esta tesis se administraron dosis únicas de etanol que produjeron, dependiendo de la dosis, una intoxicación aguda entre leve-moderada, a continuación, se especifican los criterios diagnósticos de intoxicación por alcohol según el DSM-V.

A. Ingesta reciente de alcohol.

B. Comportamiento problemático o cambios psicológicos clínicamente significativos (p. ej. comportamiento sexual inapropiado o agresivo, cambios de humor, juicio alterado) que aparecen durante o poco después de la ingestión de alcohol.

C. Uno (o más) de los signos o síntomas siguientes que aparecen durante o poco después del consumo de alcohol:

INTRODUCCIÓN

1. Habla pastosa.
2. Incoordinación.
3. Marcha insegura.
4. Nistagmo.
5. Alteración de la atención o de la memoria.
6. Estupor o coma.

D. Los signos o síntomas no se pueden atribuir a otra afección médica y no se pueden explicar mejor por otro trastorno mental, incluida una intoxicación con otra sustancia.

En las fases iniciales de la intoxicación aguda actúa sobre sistemas inhibidores de la formación reticular resultando en un efecto estimulante, con la aparición de un menor autocontrol, mayor fluidez verbal, sensación de bienestar, risa fácil y desinhibición. Después aparecen los efectos típicamente sedantes con una reducción de la capacidad de rendimiento y asociativa, torpeza motora, dificultad al andar (ataxia) y desequilibrio, pérdida de reflejos, sedación, disminución del rendimiento psicomotor y de la habilidad de conducir vehículos o manejar maquinaria (Tabla2).

INTRODUCCIÓN

Tabla 2: Manifestaciones clínicas en la Intoxicación Etílica Aguda (IEA) según su BAC (modificada de monografía del alcohol) (17).

Principales manifestaciones clínicas en la intoxicación aguda alcohólica según la concentración sanguínea de alcohol	
Concentraciones sanguíneas de alcohol	Efectos clínicos
20-50 mg/dL (4,4-11 mmol/L)	Disminución de la coordinación motora y fina
50-100 mg/dL (11-20 mmol/L)	Alteración del juicio y la coordinación
100-150 mg/dL (20-33 mmol/L)	Ataxia, hiperreflexia, prolongación del tiempo de reacción, cambios en el humor, alteraciones de la conducta
150-250 mg/dL (33-55 mmol/L)	Letargia, disartria, hipotermia, amnesia, diplopía, náuseas y vómitos
300 mg/dL (66 mmol/L)	Coma en el bebedor no habituado
400 mg/dL (88mmol/L)	Depresión respiratoria, coma, muerte

3.1.2 Impacto del género y el tabaco en el metabolismo del alcohol

Influencia del género

Entre ambos géneros se han descrito diferencias en los efectos del alcohol que se pueden explicar por mecanismos que pertenecen a dos categorías: las diferencias debidas a cambios en la farmacocinética del alcohol y las debidas a una diferente sensibilidad del sistema nervioso central de ambos géneros a sus efectos.

Las concentraciones de alcohol en sangre vienen determinadas por la tasa de absorción en el tracto gastrointestinal, el volumen de distribución y la tasa de eliminación del mismo.

Las mujeres absorben, metabolizan y eliminan el alcohol de forma distinta a los hombres. Tienen concentraciones más altas al consumir la misma cantidad de alcohol, incluso cuando las dosis se ajustan al peso (18). Este hecho se puede explicar, en parte por las diferencias en agua corporal entre ambos géneros, que es menor en las mujeres (siendo mayor el porcentaje de grasa), de modo que disminuye el volumen de distribución del alcohol. Otro factor a considerar es que las mujeres podrían tener menor actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) en el estómago que los hombres, de modo que un mayor porcentaje del alcohol ingerido alcanzara la sangre (mayor biodisponibilidad del alcohol en las mujeres) (19–21).

Aunque ambos géneros eliminan aproximadamente la misma cantidad de alcohol por unidad de peso y por hora (misma tasa de eliminación), se ha descrito que las mujeres eliminan más alcohol por unidad de masa magra que los hombres y tienen una tasa de eliminación del alcohol mayor.

En estudios previos se han observado diferencias en las concentraciones de FAEEs en sangre según el género, siendo superiores en hombres a pesar de tener similares concentraciones de alcohol en sangre a dosis de 0,5 g/kg. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, sin embargo para dosis superiores que alcanzaron alcoholemias de 130 mg/dl (unos 0,8-0,9 g/kg) las diferencias entre géneros fueron más marcadas (22,23). Los valores

INTRODUCCIÓN

más bajos en mujeres podrían explicarse por una actividad reducida de las enzimas responsables de la síntesis de los FAEEs o aumentada de las enzimas responsables de su degradación, al hecho de incluir mujeres premenopáusicas con concentraciones más bajas de triglicéridos y por tanto de FAEEs, o como una estrategia para reducir la toxicidad por alcohol en las mujeres, que ya de por sí la tienen aumentada (los FAEEs resultan tóxicos). En cuanto al etilglucurónido se ha observado también que los hombres tienen concentraciones superiores en orina, aunque no hemos identificado estudios experimentales que estudien este aspecto (24). Finalmente, respecto a la determinación de ambos metabolitos en cabello, mientras que para los FAEEs no hay diferencias entre géneros, para el EtG se ha observado también una menor concentración en mujeres. Estas diferencias en el EtG son difíciles de explicar ya que la expresión de la UDP glucuroniltransferasa es similar en ambos géneros (25).

La inclusión de hombres y mujeres en este estudio permitirá explorar estas posibles diferencias entre géneros en cuanto a la formación e los distintos metabolitos y una mayor aplicabilidad de los resultados a la clínica. Según los resultados de estudios previos la fase del ciclo menstrual (folicular o luteal) probablemente no influencia en la farmacocinética del alcohol (12,26). A su vez, aunque inicialmente se sugirió un efecto de los anticonceptivos orales en el metabolismo del alcohol (27), estudios más recientes no han logrado replicar esos datos (12,28,29).

Influencia del tabaco

Al fumar disminuye la concentración máxima de alcohol y se retrasa su absorción, debido a la influencia del tabaco en el vaciado gástrico (30). Un estudio demostró diferencias en la tasa de eliminación del alcohol entre sujetos fumadores de más de 25 cigarrillos al día y no fumadores. No parece que dosis inferiores modifiquen farmacocinética del alcohol.

Influencia de otros factores

El alcohol puede interaccionar con algunos medicamentos especialmente los sedantes del sistema nervioso central o aumentar-disminuir su metabolismo por inducción–inhibición metabólica (31).

En un estudio previo con muestras aisladas en sujetos que habían consumido alcohol se observó una mayor correlación entre las concentraciones de FAEEs y las de alcohol en sangre al ajustar por los niveles de albúmina. Esto es debido a que los FAEEs se producen principalmente en el hígado y se unen a la albúmina, que es su principal transportador en el plasma (32). Esto también sucede cuando se ajustan en función de los niveles de triglicéridos. La forma de administrar el etanol, en 2 min vs 90 min, no influyó en el curso temporal de las concentraciones de FAEEs, que en ambos casos siguió el mismo perfil que las concentraciones de alcohol, alcanzándose la concentración máxima de los FAEEs entre 20 y 40 minutos después de la de alcohol (33).

3.1.3 Farmacocinética del alcohol

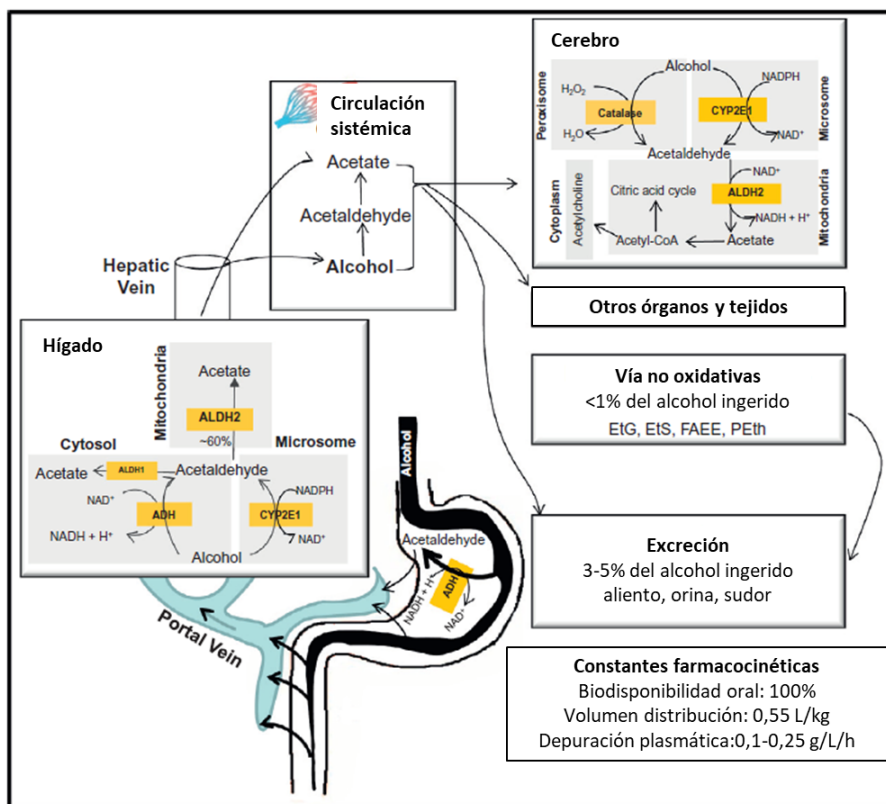
Absorción. Las concentraciones de etanol en la sangre son el resultado de absorción gastrointestinal por difusión pasiva. La absorción del alcohol es un proceso rápido ya que se trata de una pequeña molécula altamente soluble en agua, se absorbe mayoritariamente en el intestino delgado (80%) y en menor proporción en el estómago (20%). La velocidad de absorción del alcohol determina la magnitud de sus concentraciones plasmáticas, así como la intensidad y duración de sus efectos farmacológicos. Esta velocidad depende de muchos factores como por ejemplo si se hace en ayunas o después de comer (más lenta), la graduación de la bebida (más veloz cuando tiene una graduación alcohólica del 20-30%), la presencia de gas carbónico (mayor rapidez) o los alimentos (retrasan la absorción). (17,34,35)

INTRODUCCIÓN

Distribución. El alcohol es una molécula muy hidrosoluble y por ello se distribuye por toda el agua corporal, siendo las concentraciones similares a las de la sangre en la mayoría de tejidos y órganos bien irrigados. Atraviesa las barreras hematoencefálica y placentaria y se excreta en la leche materna. El volumen de aparente de distribución es de 0,55l/kg.

Metabolismo. El alcohol se metaboliza esencialmente por oxidación hepática en un 92-95%. La mayor parte del alcohol se metaboliza en acetaldehído mediante tres enzimas: la alcohol deshidrogenasa (ADH), el sistema oxidativo microsomal del etanol o MEOS (citocromo P-450 isoenzima 2E1) y el sistema catalasa-peroxidasa. Todos ellos transforman el alcohol en acetaldehído (ver apartados siguientes).

Figura 2. Vías farmacocinéticas y metabolismo del alcohol (modificada y ampliada de Johnson BA, Seneviratne C) (34).



3.1.4 Metabolismo oxidativo del alcohol

En personas no alcohólicas el 90-95% de la oxidación del alcohol se produce mediante la ADH. La dotación enzimática de ADH es limitada, de modo que existe una capacidad fija para metabolizar el alcohol (120 mg/kg/h o 8-10 g/h). Cuando se supera esta cantidad el sistema se satura y el alcohol se acumula, resultando en una cinética de orden cero o no lineal. Un 10% del etanol, o más con alcoholemias altas, es oxidado por el sistema de oxidasas mixtas microsómicas del retículo endoplásmico liso hepático (MEOS); este complejo enzimático presenta cinética de orden uno o lineal (velocidad de eliminación dependiente de concentración) y es autoinducible, siendo responsable de la mayoría de las interacciones medicamentosas que se observan con el etanol. Globalmente, el alcohol presenta por ello una cinética tipo mixto o de Michaelis-Menten (lineal a dosis bajas y no lineal a dosis moderadas o altas)(36). A su vez el acetaldehído se transforma en ácido acético mediante la aldehído-deshidrogenasa (ALDH), en un 75%, enzima que presenta un polimorfismo genético con nula actividad metabólica que conduce a concentraciones mayores de acetaldehído y efectos indeseados, mediante la aldehído-oxidasa en un 25%.

Como se ha comentado, el alcohol se elimina rápidamente del cuerpo (0,1-0,25 g/l/h) y su detección en sangre, orina o aire espirado no es útil para identificar a los pacientes abstinentes ya que, incluso tras la ingesta de altas dosis, en pocas horas resulta indetectable.

3.1.4.1 Vías oxidativas del metabolismo del alcohol

Sistema (ADH)

La ADH oxida el alcohol en su metabolito primario, el acetaldehído). Existen cinco clases principales de isoformas de la enzima ADH (isoenzimas I-V) en los seres humanos. La isoenzima clase I (ADH1) cataliza el paso limitado de

INTRODUCCIÓN

la vía oxidativa del metabolismo del etanol en el hígado (37,38). La ADH1 está formada por heterómeros de las subunidades α , β y γ . Las isoenzimas ADH de las clases II y III también se expresan en el hígado en cantidades más pequeñas (39). Clase II ADH4 y, en menor medida, clase I ADH1C contribuyen a la oxidación del alcohol en el estómago (40). El ADH4 que está presente en el hígado y la mucosa gástrica puede oxidar alrededor del 40% del alcohol total a niveles que generan intoxicación (41,42). La clase III consiste en ADH5, que oxida los alcoholes primarios de cadena larga, pero no se ha reportado actividad en la oxidación del etanol (43). Se ha demostrado que los medicamentos que inhiben la HAD aumentan la BAC. Cuando la ADH es deficiente, como se observa en las poblaciones asiáticas, el efecto de los inhibidores de la ADH sobre la oxidación del alcohol será negligente (44).

Sistema CYP 450

Las enzimas del sistema CYP 450 también participan en la oxidación del alcohol a acetaldehído. La principal enzima CYP 450 involucrada en la oxidación del alcohol es el CYP2E1 (45,46). Algunos hallazgos han indicado la participación de otras enzimas CYP como CYP1A2 (47) y CYP3A4 (48,49) que requieren mayores estudios. La actividad de CYP2E1 depende del patrón de consumo de alcohol. Cuando el alcohol se consume ocasionalmente en pequeñas cantidades, sólo una cantidad insignificante de alcohol es oxidada por el CYP2E1. Con el consumo excesivo crónico, la actividad del CYP2E1 es inducida por aproximadamente 10 veces más. Esta capacidad de oxidar más alcohol acelera la eliminación del alcohol de la sangre, lo que lleva al desarrollo de una tolerancia crónica (50). Por lo tanto, los medicamentos metabolizados por CYP2E1 se oxidan más rápido en bebedores crónicos, requiriendo dosis más altas. Por el contrario, si un medicamento metabolizado por el CYP2E1 y se administra después de un episodio agudo de consumo excesivo de alcohol, los efectos terapéuticos del medicamento pueden

INTRODUCCIÓN

prolongarse como consecuencia del alcohol y de la medicación que compete por los sitios de unión en el CYP2E1 (51).

Catalasa Peroxidasa

La catalasa (H₂O₂: H₂O₂ oxidorreductasa, EC 1.11.1.6; CAT) es un enzima tetramérico con un grupo hemo en cada subunidad. El gen de la catalasa humana ha sido localizado en el cromosoma 11(52). Se encuentra en todos los organismos aeróbicos y todo indica que su función es degradar rápidamente el peróxido de hidrógeno. Esta enzima, localizada en los peroxisomas de las células, es capaz de oxidar el etanol *in vitro* en presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). No obstante, su contribución es mínima. Debido a que algunas mediciones *in vitro* pueden ser menores de los existentes *in vivo* lo que reduciendo la importancia percibida de la vía metabólica (17).

El acetaldehído producido por cualquiera de estas tres vías es posteriormente metabolizado a acetato y NADH en las mitocondrias, principalmente por medio de ALDH2 (aldehído deshidrogenasa). El acetato se convierte en CO₂. Puede causar un aumento del flujo sanguíneo, depresión del SNC y/o afectar a varios procesos metabólicos. También se puede transformar a AcetilCoa, el cual está implicado en la biosíntesis de los lípidos y el colesterol (53)

Sistema ALDH

El acetaldehído producido en el paso inicial de la oxidación del alcohol está clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer como un carcinógeno conocido (54). El acetaldehído tóxico es metabolizado por la ALDH en el metabolito secundario benigno, el acetato. La superfamilia de la ALDH consta de 19 isozimas con diferentes parámetros cinéticos (55). Las dos principales isozimas hepáticas humanas la ALDH1 citosólica y la ALDH2 mitocondrial (56) se diferencian por su localización subcelular, parámetros cinéticos y movilidad electroforética. Existen seis subtipos de enzimas

INTRODUCCIÓN

identificadas en la familia de las ALDH1. De éstos, el ALDH1A1 contribuye a la oxidación del alcohol, pero con una menor eficacia catalítica que la ALDH2 (57). Los medicamentos que bloquean la ALDH hepática pueden causar acumulación de acetaldehído, lo que aumenta el riesgo de desarrollar cáncer. Entre estos medicamentos está el disulfiram cuya indicación es el tratamiento de la dependencia al alcohol (alcoholismo crónico), como coadyuvante de programas integrados de deshabituación. Está diseñado específicamente para dirigirse a la vía del metabolismo del acetaldehído. El disulfiram actúa inhibiendo el ALDH2 en el cerebro y el hígado (58), lo que resulta en unos niveles entre 5 y 10 veces más altos después del consumo de alcohol. El consumo conjunto produce un cuadro clínico característico (*disulfiram-like reaction; antabuse-like syndrome*) con enrojecimiento de la cara, cefalea, sudoración profusa, taquicardia, náuseas, vómitos y en ocasiones vértigo, hipotensión arterial y síncope.

3.1.5 Metabolismo no oxidativo del alcohol

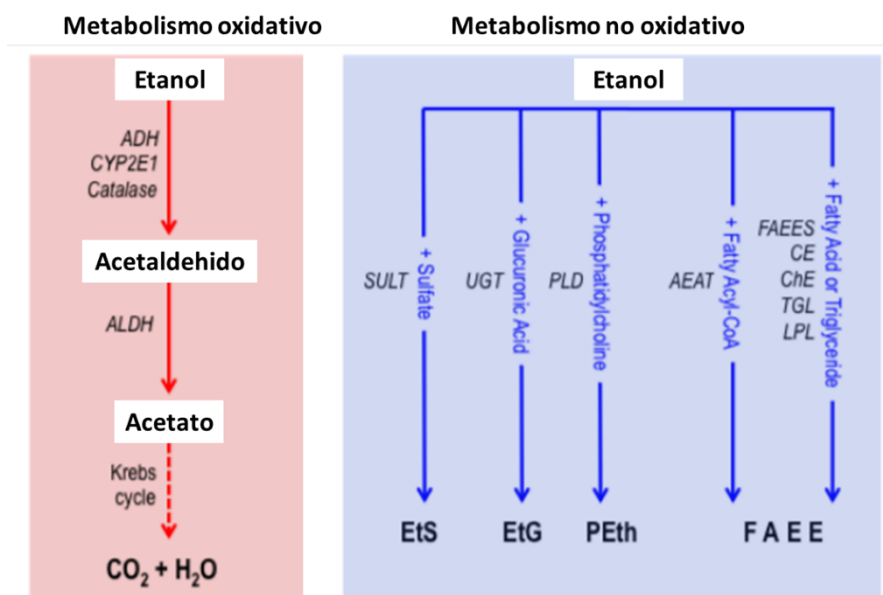
En términos cuantitativos, las vías no oxidativas constituyen una fracción menor del metabolismo total del alcohol (35). Sin embargo, debido a las tasas de eliminación más lentas, los metabolitos no oxidativos del alcohol persisten en los fluidos y tejidos corporales durante mucho más tiempo que el propio alcohol en sí. Pueden detectarse a lo largo de horas-días, según la cantidad de alcohol ingerida y el metabolito concreto. Esta característica hace que los metabolitos no oxidativos sean biomarcadores que permiten la evaluación retrospectiva de la ingesta de alcohol incluso cuando éste ya no está presente en el cuerpo. Además, la acumulación de pruebas sugiere que la formación de metabolitos específicos del alcohol por la vía no oxidativa interfiere con las vías de señalización celular, interrumpe la función de los organelos y contribuye a la toxicidad del alcohol en órganos con capacidad oxidativa limitada (59).

INTRODUCCIÓN

Los metabolitos no oxidativos del alcohol estudiados en esta Tesis doctoral son el etilglucurónido (EtG), el etilsulfato (EtS) y los ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs). Está descrito que los FAEEs en sangre se detectan hasta 24 horas después del consumo de alcohol mientras que el EtG/EtS se detectan en orina hasta 5 días después (24).

Aunque se consideran rutas minoritarias sus productos tienen cierta importancia. Se describen al menos 4 rutas no oxidativas en el metabolismo del alcohol. 1) Formación de ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs) mediante la reacción del alcohol con los ácidos grasos. El daño que provoca la presencia de estas moléculas en los tejidos no está todavía muy estudiado. 2) Formación de fosfolípidos, conocidos como fosfatidiletanol (PEth). Por medio de la enzima fosfolipasa D se descomponen los fosfolípidos dando lugar a la formación del ácido fosfatídico. Esta reacción ocurre predominantemente cuando hay grandes concentraciones de alcohol en sangre. El fosfatidiletanol es pobremente metabolizado, acumulándose hasta alcanzar niveles elevados. 3) El tercer metabolito minoritario es el etilglucurónido (EtG), formándose en el hígado cuando reacciona con el ácido glucurónico. Es fácilmente excretable a través de la orina. 4) El último conjugado del etanol es el etilsulfato (EtS) se produce por una sulfotransferencia. El etanol después de una sulfato conjugación con la 3'-fosfoadenosina 5'- fosfosulfato y la acción de sulfotransferasa produce el EtS. La valoración de su concentración, con el consumo agudo y crónico de etanol, tiene mucha importancia cuando se relaciona con la del EtG. (60,61).

Figura 3. Metabolismo oxidativo y no oxidativo del alcohol (modificada y ampliada de Dinis Oliveira) (35).



Una pequeña parte del alcohol puede ser eliminado inalterado por vías accesorias (~5%) como son el riñón (orina), la piel (sudor) y el pulmón (respiración), o bien seguir un metabolismo no oxidativo (<2%).

3.1.6 Biomarcadores del consumo de Alcohol

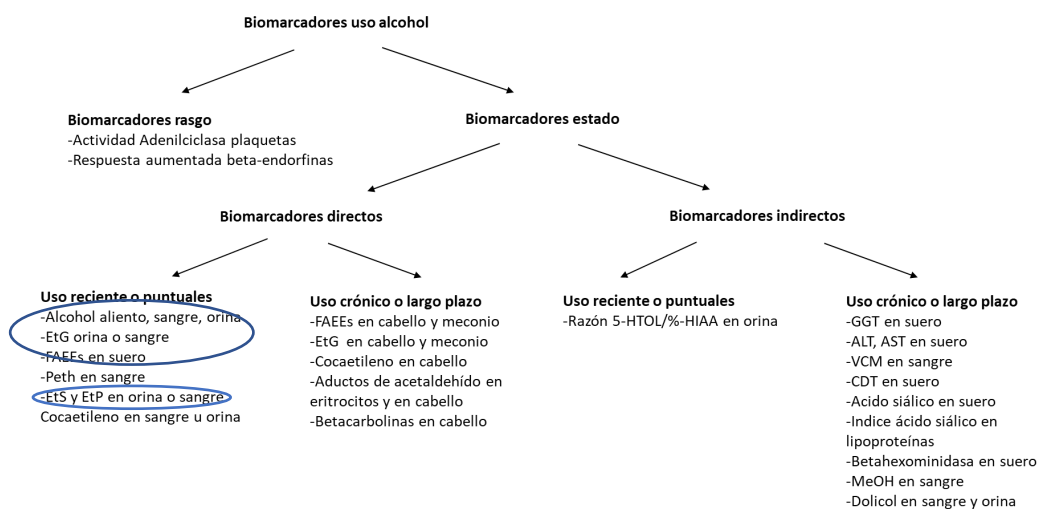
La detección de biomarcadores del consumo de alcohol es una herramienta útil para prevenir la aparición de problemas sociales y de salud relacionados con la ingesta del mismo ofreciendo la oportunidad de verificar objetivamente la información sobre el consumo de alcohol proporcionado por un paciente o sujeto. Estos biomarcadores ayudan a cuantificar el consumo de alcohol y permiten identificar a los sujetos con riesgo de abuso, dependencia o susceptibles de presentar síntomas de abstinencia a la sustancia. También son útiles para evaluar la eficacia de los tratamientos en pacientes alcohólicos y algunos de ellos identifican el daño hepático por consumos repetidos (62).

INTRODUCCIÓN

Estos marcadores deberían reflejar el consumo tanto crónico como agudo y se conocen también como "state markers", ya que indican el estado del paciente al que se le está realizando el análisis; en cambio, los marcadores que indican la predisposición a desarrollar alcoholismo se conocen como "trait markers".

Los marcadores que se analizan en el laboratorio, hasta el momento, son los de estado "state markers", que se subdividen en marcadores directos e indirectos. Los marcadores directos derivan de la molécula de etanol y son el propio etanol y alguno de sus metabolitos como los ésteres etílicos de los ácidos grasos (FAEEs, fatty acid ethyl esters), etil-glucurónido (EtG), fosfatidiletanol (PETH), así como algunos derivados del acetaldehído. Los marcadores indirectos son consecuencia de alteraciones patógenas o metabólicas ocasionadas por el consumo excesivo de alcohol, entre ellos podemos citar enzimas hepáticas como (GGT), (GOT), (GPT), volumen corpuscular medio (MCV) o transferrina deficiente de carbohidratos (CDT), etc (63).

Figura 4. Clasificación de biomarcadores (modificada y ampliada de Joya X) (63).



INTRODUCCIÓN

Todos los marcadores anteriores se pueden analizar en varios fluidos biológicos, aunque fundamentalmente es en la matriz biológica sangre (suero o plasma), donde se disponen de más datos, mientras que, en el pelo, hasta el momento sólo se han analizado tres marcadores: etil-glucurónido, esteroides de los ácidos grasos y fosfatidiletanol.

3.1.6.1 *Biomarcadores Directos*

Los biomarcadores directos se crean cuando el etanol se metaboliza o reacciona con sustancias en el cuerpo. Existen biomarcadores directos del consumo de alcohol, entre ellos el propio alcohol y metabolitos. El alcohol se elimina rápidamente del cuerpo (0,1-0,25g/l/h) y su detección en sangre, orina o aire espirado no es útil para identificar a los pacientes abstinentes ya que, incluso tras la ingesta de altas dosis, en pocas horas resulta indetectable. Los metabolitos no oxidativos del alcohol, más prometedores y que según nuestro criterio, son los más importantes para valorar el consumo de alcohol secundario a la ingesta de bebidas alcohólicas son: el Etilglucurónido (EtG), el Etil sulfato (EtS), el fosfatidiletanol (PEth) y los ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs).

En común estos metabolitos tienen una semivida de eliminación más larga que la del etanol. Pueden detectarse a lo largo de horas-días, según la cantidad de alcohol ingerida y el metabolito concreto. Los FAEEs en sangre se detectan hasta 24 horas después del consumo mientras que el EtG/EtS en orina hasta 5 días (24). La detección en cabello permite detectar consumos de alcohol de varios meses anteriores, según la longitud del segmento utilizado (64,65).

El uso de estos biomarcadores no oxidativos en la clínica no está instaurado de forma rutinaria por su dificultad analítica y precio. Por el momento sólo se utilizan mayoritariamente en casos de intoxicaciones graves (uso forense) y para investigación. Podrían ser muy útiles para identificar consumos de dosis

INTRODUCCIÓN

únicas de etanol desde horas hasta una semana previa y consumos realizados hasta varios meses antes en cabello (61). Se presentan a continuación los biomarcadores incluidos en esta Tesis Doctoral.

a. Alcohol- Etanol (EtOH):

Este compuesto se puede detectar en diferentes muestras biológicas, como ya se comentó hay una gran variedad de muestras utilizadas para su determinación, siendo las más importantes: sangre, orina y aire espirado. La determinación de etanol en cualquier muestra biológica no permite distinguir entre el bebedor agudo o el bebedor crónico, porque la cantidad encontrada, de alcohol etílico, solo confirma su existencia en el momento en que la muestra analizada fue recogida.

b. Esteres etílicos de los ácidos grasos (FAEEs)

Como se ha comentado previamente, los FAEEs son productos no oxidativos del metabolismo del etanol. Se forman en la sangre y otros tejidos a través de la esterificación enzimática del etanol con ácidos grasos. Estas sustancias están ganando interés como biomarcadores del uso del etanol y han sido evaluados en diferentes tipos de muestras: sangre, pelo y meconio. Los FAEEs se pueden medir en sangre poco después del consumo de etanol y sus concentraciones disminuyen rápidamente en las primeras 24 horas. Sin embargo, pueden seguir siendo detectables en la sangre de los bebedores que cumplen criterios de abuso hasta 4 días después de la última vez que se consumió etanol (57).

Su formación tiene lugar principalmente en el hígado y en el páncreas mediante una esterificación enzimática del etanol con ácidos grasos libres, triglicéridos, lipoproteínas y fosfolípidos, empleando dos tipos de enzimas: FAEE sintasa y acil-CoA/etanol O-acil-transferasa (AEAT) (66).

Existen muchos ácidos grasos, cuyas estructuras pueden ir desde los 12 hasta los 20 carbonos que pueden generar estos metabolitos, entre los principales exponentes se incluyen el etil laurato (E12), etil miristato (E14),

INTRODUCCIÓN

etil palmitato (E16), etil palmitoleato (E16:1), etil estereato (E18), etil oleato (E18:1), etil linoleato (E18:2), etil araquidonato (E20:4) y el docosahexaenoato (E22:6) (22). Los análisis de los FAEEs se realizan principalmente en tipos de muestras alternativas como el cabello y el meconio. Las muestras de cabello y de meconio proporcionan una ventana larga (varios meses) de detección de patrones de uso de etanol. Varios estudios han demostrado que los niveles de los FAEEs en estas matrices pueden estar relacionados con el consumo excesivo de alcohol a largo plazo. Se cree que los FAEEs en el cabello se originan de la producción local de las glándulas sebáceas. Los FAEEs en el meconio son de origen fetal, no materno. El etanol consumido por la madre puede atravesar la placenta, pero los FAEEs producidos por la madre no lo hacen. Por lo tanto, los FAEEs presentes en el feto se derivan de la producción fetal de estas sustancias a partir de etanol (59). Según el documento de la Society of Hair Testing Consensus se recomienda para fines de diagnóstico la determinación de las concentraciones de cuatro FAEEs (etil palmitato, etil miristato, etil oleato y etil estearato). Sin embargo, no parece haber consenso entre los investigadores sobre qué FAEEs deben medirse en meconio. La técnica de medición para los FAEEs en cabello y en meconio más comúnmente utilizada es por cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) o por LC-MS/MS.

c. Etilglucurónido (EtG):

El uso de etil glucurónido (etil β -D-6-glucurónido; EtG) como un posible marcador para el consumo de alcohol fue descubierto por primera vez en 1995 por Schmitt. Es catalizado por la superfamilia de enzimas UDP-glucuronosiltransferasa (UGT), que utilizan el ácido UDP-glucurónico como cofactor. Aproximadamente el 0,02-0,06% de la cantidad total de etanol consumido se elimina como EtG en la orina. Representa una herramienta útil ya que el EtG se vuelve detectable hasta 4 días después de la eliminación completa del alcohol del cuerpo. El EtG puede ser detectado en varias

INTRODUCCIÓN

matrices biológicas, tanto en las consideradas matrices tradicionales (sangre y orina) como en las matrices alternativas (pelo y meconio), también se ha descrito también en tejidos postmortem. Este metabolito es el resultado de la conjugación del etanol y el ácido glucorónico, según la cantidad de etanol en exceso la concentración de EtG puede variar. Es un marcador de consumo agudo y de consumo crónico de etanol, esta valoración depende de la muestra utilizada durante el ensayo analítico. La presencia de EtG en la orina sugiere un consumo reciente de alcohol en un tiempo en el que el etanol en sí ya no puede medirse en el aliento o en los fluidos corporales.

La formación de EtG es catalizada por múltiples enzimas de UGT, lo que implica que cualquier diferencia funcional debida a polimorfismos de las UGT sería muy probablemente enmascarada por una combinación de otras isoformas de las UGT. Por lo tanto, no hay ninguna razón farmacogenética por la que el EtG no pueda utilizarse como biomarcador para el consumo de etanol. El consumo de una cantidad relativamente pequeña de etanol, 7 g (equivalente al contenido de una cerveza de 0,33 L, con 2,2% de etanol) puede resultar en concentraciones de EtG detectables durante 6 horas en la orina (67). El tiempo de detección en la orina parece ser más largo en grandes consumidores crónicos de alcohol, encontrándose EtG en la orina de los pacientes con dependencia de alcohol después del ingreso para el tratamiento de desintoxicación durante 2 a 5 días.

En los últimos años, se ha demostrado que el consumo de alcohol puede determinarse indirectamente analizando el cabello (68). La naturaleza sólida y duradera del cabello asegura un tiempo de detección sustancialmente más largo para las sustancias químicas. Durante el período de crecimiento, las sustancias pueden entrar en el cabello ya sea a través de la incorporación por difusión de la sangre en las células en crecimiento o por deposición del sudor o del sebo en el tallo capilar completo.

d. Etilsulfato (EtS)

Este metabolito es el resultado de la conjugación del alcohol y una sulfato conjugación con la 3'- fosfoadenosina 5'- fosfosulfato y la acción de sulfotransferasa citosólica produciéndose EtS. La valoración de su concentración, con el consumo agudo y crónico de etanol, tiene mucha importancia cuando se relaciona con la del EtG. La presencia de EtS en la orina sugiere un consumo reciente de alcohol en un tiempo en el que el etanol en sí ya no puede medirse en el aliento o en los fluidos corporales, encontrándose en la orina de los pacientes con dependencia de alcohol después del ingreso para el tratamiento de desintoxicación durante 2 a 5 días.

3.1.6.2 Biomarcadores Indirectos

Los biomarcadores indirectos son enzimas o células que experimentan cambios típicos en respuesta al consumo agudo o crónico de alcohol. Durante muchos años, se han utilizado clínicamente varias pruebas de laboratorio de fácil acceso como indicadores de consumo excesivo de alcohol. En este grupo de pruebas se incluye la aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), la glutamiltransferasa (GGT), y el volumen corpuscular medio (VCM). Un nuevo biomarcador, la transferrina carbohidrato (CDT), sola o en combinación con la GGT, se está convirtiendo cada vez más en la prueba solicitada con frecuencia para detectar trastornos por consumo de alcohol. En general, los biomarcadores indirectos, se producen por alteraciones patológicas o metabólicas ocasionadas por elevadas concentraciones de alcohol en el organismo, y la valoración de muchos de estos marcadores depende de la comparación de los valores detectados frente a rangos normales o parámetros fisiológicos (81,95, 99). Estos biomarcadores no sólo difieren significativamente en lo que se refiere al período durante el cual pueden detectarse y la cantidad de consumo de alcohol, ya que para que exista alguna modificación en la práctica clínica y obtener un resultado positivo en la prueba, generalmente debe existir un

INTRODUCCIÓN

consumo crónico. Estas pruebas tienen limitada especificidad debido a que pueden afectarse por patologías no relacionadas con el consumo crónico de alcohol y/o con el consumo de medicamentos, por lo que puede que se manifiesten en ausencia de exposición al alcohol (1-3), ya que estos parámetros pueden ser anormales debido a otras condiciones.

A continuación, se describen algunos de los marcadores indirectos más utilizados:

A. Enzimas hepáticas

Gamma-glutamyltransferasa (GGT):

La gamma-glutamyl-transferasa sérica es el marcador de laboratorio más ampliamente usado como test para abuso de alcohol, debido a su relación con el daño hepático.

Transaminasas:

La Aspartato-aminotransferasa (AST) o Glutamato oxalacetato transaminasa (GOT) y la Alanina-aminotransferasa (ALT) o glutamato piruvato transaminasa (GPT) son las enzimas más frecuentes que marcan un daño hepático por lisis celular. El cociente entre GOT y GPT indica daño hepático y la posible causa por consumo de alcohol. La GGT es una enzima microsómica hepática que puede aumentar debido a la liberación de las células hepáticas dañadas por el alcohol, las drogas hepatotóxicas, la isquemia, hepatitis viral y medicamentos como los barbitúricos y la fenitoína, entre otras causas, que pueden generar falsos positivos. De las enzimas hepáticas, la GGT es la que más tarda en recuperarse después de dejar de consumir alcohol (de 2 a 3 semanas), lo que hace que este marcador sea menos beneficioso para la salud. El valor clínico de la GGT como prueba de cribado, es debido a que los niveles de GGT están relacionados con el estado de estrés oxidativo, que es el mecanismo clave por el cual el uso de etanol promueve lesiones en los tejidos. La sensibilidad general de la GGT es moderada para la detección de uso intensivo de etanol.(69)

INTRODUCCIÓN

Con respecto a las transaminasas, la ALT se encuentra sólo en los hepatocitos mientras que la AST está presente en muchos tejidos diferentes, pero predomina en el hígado y en el músculo esquelético. En consecuencia, las elevaciones de AST no son necesariamente específicas del hígado. Una relación de AST/ALT superior a 1.5 sugiere que el daño hepático se debe al alcohol y no a otras causas (70). Las transaminasas no son tan sensibles o específicas para el consumo excesivo de alcohol como el GGT o la CDT.

B. Volumen corpuscular medio (VCM)

El VCM es una medida del tamaño de los glóbulos rojos y es un parámetro hematológico de rutina. El VCM medio es más alto en los bebedores crónicos y parece haber una correlación positiva entre el grado de consumo de alcohol y el tamaño de los glóbulos rojos (20). Se considera que hay una relación entre la macrocitosis y el consumo de alcohol, pero el VCM no es un marcador adecuado para medir la abstinencia porque puede tomar de 2 a 4 meses para alcanzar los valores de referencia después de que se haya detenido el consumo de etanol (11,20). El VCM puede estar elevado por muchas otras condiciones, tales como deficiencia de folato, hipotiroidismo y anemia hemolítica, entre otros.

C. Transferrina deficiente de carbohidratos (CDT)

La transferrina es una glicoproteína sintetizada en el hígado que funciona como proteína transportadora de hierro. La transferrina tiene diferentes isoformas que varían en el número de ácidos siálicos terminales. La CDT se refiere a isoformas que son deficientes en ácido siálico. La CDT suele ser definida como las isoformas disialo, monosialo y asialo de la transferrina, siendo estas 2 últimas las que se relacionan con el consumo de etanol. Este metabolito puede ser utilizado en la valoración del consumo crónico de alcohol. Esta prueba tiene una sensibilidad y especificidad moderadas y es un marcador a largo plazo de consumo de alcohol (1). El consumo de 50 a 80

INTRODUCCIÓN

g de alcohol al día durante 1 a 2 semanas eleva la TDC por encima de los niveles basales. Es especialmente útil como marcador de abstinencia porque tiene una vida media relativamente corta (1,5 semanas) y vuelve a los niveles de referencia de 2 a 5 semanas después de cesar el consumo de alcohol. Algunos estudios continúan reportando más falsos positivos en trastornos congénitos poco frecuentes de la glicosilación como el síndrome de glicoproteína deficiente en carbohidratos, en el que puede estar elevada la CDT. Además, los pacientes con enfermedad hepática crónica avanzada pueden tener valores altos de CDT en ausencia de ingesta de alcohol.

D. HDL-Colesterol y Triglicéridos

Es sabido que un consumo excesivo de alcohol puede alterar el metabolismo y el transporte lipídico del organismo. Múltiples estudios poblacionales recientes confirman que el consumo de alcohol está asociado con un aumento de los triglicéridos plasmáticos. El consumo de alcohol se asoció linealmente con los triglicéridos plasmáticos, mostrando las concentraciones más altas en aquellos individuos con el mayor consumo de alcohol. Si bien los triglicéridos no son buenos marcadores porque esta anomalía se puede generar por otras alteraciones posiblemente de carácter patológico.

INTRODUCCIÓN

4 JUSTIFICACION

La mayoría de biomarcadores directos no oxidativos del alcohol mencionados (EtG, EtS y FAEEs) se han validado en estudios experimentales dónde se han administrado una o dos dosis de alcohol a voluntarios sanos principalmente de género masculino y se han recogido muestras puntuales de sangre, orina o cabello (71–75). La gran limitación es que los datos publicados hasta la fecha son incompletos. En unos estudios se emplea e identifica o utiliza un solo biomarcador o matriz biológica, en ocasiones EtG y EtS y en otros estudios los FAEEs. Además, la mayoría incluye pocos sujetos y se emplean solamente una o dos dosis de alcohol, que son dosis medias o bajas (entre 2 y 4 UBE). En otras ocasiones, se trata de estudios observacionales en personas que habían ingerido altas dosis de etanol por su cuenta o estaban en el proceso de desintoxicación alcohólica. De nuevo sólo se evalúa uno o dos de los biomarcadores (67,74,76).

No existen estudios en que se hayan administrado varias dosis de alcohol, de bajas a elevadas y se hayan evaluado todos los biomarcadores mencionados. El uso de los biomarcadores citados en el presente proyecto, permitirá identificar qué marcador resulta más adecuado en cada caso y estudiar también sus perfiles cinéticos a distintas dosis de alcohol.

Como antecedente directo de este proyecto de tesis podemos mencionar que en el marco de un proyecto del ISCIII-FIS (referencia FIS PI08/1913, IP. Magí Farré, titulado “El hidroxitirosol como antioxidante de origen endógeno y natural: modulación por la ingesta de alcohol”), que versaba sobre las propiedades antioxidantes del alcohol y su relación con la formación endógena de hidroxitirosol (DOPET), tuvimos la oportunidad de administrar dosis únicas de alcohol a un grupo de voluntarios sanos y determinar los biomarcadores citados (EtG, EtS, FAEE) en algunas de las muestras de sangre y orina de hasta 24 horas. No se recogieron muestras de cabello ni saliva, ni muestras adicionales más allá de las 24 horas tras la dosis de

JUSTIFICACION

alcohol, ya que no eran necesarias para la finalidad del proyecto. Las dosis oscilaron entre 8 y 42 g. El número de sujetos también fue limitado (6 sujetos varones en la mayoría de dosis, y alguna con 12 sujetos también varones).

Los resultados mostraron que tras la administración de dosis crecientes de alcohol (8-42 g) se producía un incremento significativo de las concentraciones de alcohol en sangre. El AUC de la alcoholemia siguió una relación no lineal con la dosis de alcohol a partir de 42 g, como ya se había descrito con anterioridad (77). La excreción de EtG en orina también aumentó con la dosis, y lo que es más importante, y no hemos encontrado descrito en la literatura, es que las concentraciones aumentaron de forma no lineal a partir de la dosis de 42 g (78). Se desconoce lo que podría ocurrir con dosis más altas a las utilizadas en ese estudio, y si habría diferencias entre ambos géneros.

5 HIPÓTESIS

Las hipótesis de de esta Tesis son las siguientes:

1. Las concentraciones de alcohol tras el consumo experimental de dosis crecientes de alcohol en plasma en sujetos adultos presentan una relación no proporcional a la dosis (no lineal).
 - 1.1. Las concentraciones de alcohol aumentan de forma desproporcional a la dosis administrada, especialmente a dosis altas, mostrando una cinética no lineal.
 - 1.2. Las concentraciones de alcohol son mayores en las mujeres cuando se administran dosis idénticas en ambos géneros.

2. Las concentraciones de los biomarcadores no oxidativos del alcohol, concretamente el etilglucurónido (EtG), el etilsulfato (EtS) y los esteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs) presentan una relación no proporcional a la dosis (no lineal).
 - 2.1. Las concentraciones de los biomarcadores no oxidativos del alcohol aumentan de forma desproporcional a la dosis administrada, especialmente a dosis altas, mostrando una cinética no lineal.
 - 2.2. Las concentraciones de biomarcadores no oxidativos del alcohol son superiores en mujeres.
 - 2.3. Las concentraciones de Etilglucurónido y de Etilsufato persisten más tiempo que las de alcohol en plasma, en orina se pueden encontrar hasta dos días después del consumo agudo.

3. Los efectos farmacológicos agudos del alcohol tras su administración experimental (fisiológicos y subjetivos) son mayores a medida que se incrementan las dosis de alcohol.
 - 3.1. Las dosis crecientes de alcohol aumentaran la sensación de borrachera y los efectos estimulantes-sedantes (BAES)

HIPÓTESIS

- 3.2. Las dosis crecientes de alcohol aumentaran los efectos sobre la frecuencia cardíaca
- 3.3. En las mujeres los efectos de dosis crecientes de alcohol son mayores que en los hombres cuando la dosis administrada es idéntica. Las mujeres presentan más efectos negativos y adversos que los hombres.

6 OBJETIVOS

Los objetivos de esta Tesis fueron los siguientes:

1. Conocer las concentraciones de alcohol tras el consumo experimental de dosis crecientes de alcohol en plasma en sujetos adultos.
 - 1.1 Comparar las concentraciones tras dosis crecientes de alcohol.
 - 1.2 Comparar las concentraciones entre hombres y mujeres.

2. Conocer las concentraciones de los biomarcadores no oxidativos del alcohol más relevantes, el etilglucurónido (EtG), el etilsulfato (EtS) y los esteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs) en plasma tras el consumo experimental de dosis crecientes de alcohol en sujetos adultos.
 - 2.1 Comparar las concentraciones tras dosis crecientes de alcohol.
 - 2.2 Comparar las concentraciones entre hombres y mujeres.
 - 2.3 Comparar las concentraciones en plasma y orina de etilglucurónido (EtG), el etilsulfato (EtS) tras dosis crecientes de alcohol.

3. Conocer los efectos farmacológicos agudos (fisiológicos y subjetivos) tras el consumo experimental de dosis crecientes de alcohol en sujetos adultos.
 - 3.1 Comparar los efectos farmacológicos subjetivos (borrachera y efectos estimulantes-sedantes) tras dosis crecientes de alcohol.
 - 3.2 Comparar los efectos farmacológicos fisiológicos (cardiovasculares) tras dosis crecientes de alcohol.
 - 3.3 Comparar los efectos entre hombres y mujeres.

OBJETIVOS

7 MÉTODOS

7.1 PROYECTO Y FINANCIACIÓN

La presente memoria se enmarca en un proyecto financiado por el Plan Nacional Sobre Drogas (PNSD) titulado “Biomarcadores de consumo de alcohol: evaluación adultos y menores” (expediente número 2013/062), cuyo investigador principal fue el Dr. Magí Farré Albaladejo y después la Dra. Francina Fonseca, ambos directores de esta Tesis. El proyecto constaba de cuatro subestudios. El primero es un ensayo clínico en un grupo de voluntarios sanos adultos que han recibido una dosis única de etanol. El segundo es un seguimiento durante dos meses de un grupo de adultos consumidores de alcohol a dosis bajas (2-3 UBE/día). El tercero es un seguimiento durante dos meses de un grupo de adultos consumidores de alcohol a dosis elevadas (6 o más UBE/día, incluidos alcohólicos en seguimiento). El cuarto es un seguimiento durante dos meses de un grupo de menores (entre 14 -17 años) consumidores de alcohol que acuden a un programa de educación para dejar de consumir (el consumo será mayor de 2 UBE/día). El protocolo sufrió una modificación relevante en el subestudio 1 para cambiar el investigador coordinador y principal del mismo, a su vez, se añadieron varias escalas para evaluar los efectos subjetivos del alcohol. Se redactó una nueva hoja de información y consentimiento informado incorporando dicho cambio.

Para el desarrollo de esta Tesis sólo se incluye el primer subestudio del proyecto de investigación descrito.

El protocolo correspondiente a este estudio titulado “Biomarcadores de consumo de alcohol: evaluación adultos y menores subestudio 1: conocer el perfil de los biomarcadores no oxidativos del alcohol más relevantes (EtG, EtS y los FAEEs) tras el consumo experimental de dosis crecientes de alcohol en sujetos adultos”, fue aprobado por el Comité Ético de

MÉTODOS

Investigación Clínica del Parc de Salut Marc (CEIC Parc de Salut Mar) y registrado en Clinicaltrials.gov (NCT02311686). Al tratarse de un ensayo clínico sin medicamentos, no se solicitó la autorización a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) según la Directiva Europea de ensayos clínicos 2001/20/CE (traspuesta al Real Decreto 223/2004) y por ello la legislación aplicable fue la Ley de Investigación Biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio).

7.1.1 Diseño

El diseño del estudio fue el de un ensayo clínico de fase I a simple ciego, no aleatorizado y en voluntarios sanos, con el objetivo de estudiar el perfil de los biomarcadores no oxidativos del alcohol tras consumos agudos de dosis distintas de alcohol y saber su comportamiento en sujetos que consumen alcohol dentro de la categoría sin riesgo. Para ello, se administraron 4 diferentes dosis de alcohol con una sola condición de tratamiento por voluntario (ver apartado de condiciones de tratamiento).

Como se muestra en el apartado de resultados, participaron un total de 53 voluntarios sanos (32 hombres y 21 mujeres), con experiencias previas de embriaguez tras consumo de alcohol de forma recreacional. Los participantes se distribuyeron en cuatro cohortes de tratamiento. Tres cohortes reclutaron un total de 45 sujetos con un total de 15 voluntarios de ambos géneros (8 hombres y 7 mujeres) por cohorte. Una cuarta cohorte incluyó 8 sujetos de género masculino.

En el caso de retirada o abandono de un sujeto, este sujeto fue sustituido por otro que recibió el mismo tratamiento asignado al sujeto que fue retirado o que abandonó.

Enmascaramiento.

MÉTODOS

Como ya se ha comentado, este estudio se realizó con un diseño simple ciego. El voluntario no era informado sobre la dosis que recibiría. Se utilizaron recipientes opacos para las administraciones y se mezcló el vodka con agua sabor limón para disimular un poco el sabor de las dosis bajas de etanol. El valor obtenido de la alcoholemia en aire espirado no se mostró a los voluntarios.

7.1.2 Condiciones de tratamiento

Las dosis de alcohol escogidas en este estudio estaban comprendidas en el rango de consumo de alcohol de patrón mediterráneo, desde dosis bajas hasta dosis claramente superiores que producen síntomas importantes de embriaguez. Se administraron dosis únicas y por vía oral de 20 g, 40 g, 60 g y 80 g de alcohol (etanol) a cuatro distintas cohortes de sujetos. La cantidad de alcohol administrada en este estudio fue en formato solución hidroalcohólica con una mezcla de Vodka Absolut® (Ahus, Sweden) diluido con agua Fontvella® sabor limón sin contenido calórico (Aguas Danone, SA, Barcelona).

Las condiciones de alcohol en este estudio no fueron aleatorizadas entre los participantes. Para minimizar riesgos, se realizó una anamnesis dirigida al consumo de alcohol durante la visita de selección en la que los sujetos informaban sobre su consumo aproximado de alcohol acumulado semanal en (UBE) y su hábito de consumo. Se preguntaba sobre la experiencia previa en borracheras, y el consumo en atracón (“binge drinking”) y en caso afirmativo sobre la cantidad de consumo. En función de ello se seleccionaba a los sujetos para formar parte de las distintas cohortes, siendo los consumos más bajos distribuidos en las dosis de 20g de alcohol, los consumos moderados para las dosis de 40g y los mayores consumidores en las dosis altas 60g-80g respectivamente. En cuanto al orden de las dosis, por principio de prudencia, no se administró la dosis de

MÉTODOS

80g de alcohol hasta haber administrado al menos a 4 voluntarios con 60g sin la aparición de efectos adversos graves y una tolerabilidad adecuada.

Como justificación de estas dosis, en estudios previos realizados en nuestra unidad se habían administrado dosis únicas de alcohol de entre 42-65 g siendo bien toleradas por los voluntarios, (79) (0,8g/kg), (80) (0,8g/kg), ((81) (0,8 g/kg). (82) (0,7g/kg), (78) (0.2g/kg) (83) (0,8g/kg)). En estudios anteriores del grupo u otros investigadores se administraron dosis de alcohol más altas ya fueran únicas o múltiples, desde 0,7 a 1 g/kg y hasta 1,5 g/kg (84–88), (89), (79) (0,8g/kg), (80) (0,8g/kg), (90) (1g/kg), (82) (0,7g/kg), (83) (0,8g/kg); (81) (0,8 g/kg), (91) con una buena tolerabilidad.

Para la administración de los g de alcohol, se calcularon mediante la siguiente fórmula:

$$\text{g alcohol} = \text{grados de la bebida} \times \text{ml de bebida} \times 0,8 / 100$$

Con esta fórmula se han podido calcular los ml de Vodka necesarios para cada una de las dosis de alcohol a administrar. En el caso del vodka utilizado, la graduación alcohólica fue del 40%, que representa una cantidad de 32g por 100 mL. Una dosis de 10 g de alcohol se corresponde aproximadamente a lo que en medicina denominamos 1 Unidad de Bebida Estándar (UBE), por lo que en este estudio se administraron entre 2 y 8 UBE.

El cálculo de la alcoholemia máxima esperable tras consumir bebidas alcohólicas es relativamente sencillo de calcular si se considera una ingesta aguda en un estómago vacío.

MÉTODOS

Se utiliza la siguiente fórmula

$$\text{Alcoholemia previsible (g/l)} = \frac{\text{g alcohol absoluto ingeridos}}{\text{Kg de peso corporal}} \times 0,7 \text{ (hombre) o } 0,6 \text{ (mujer)}$$

En este estudio para las dosis más altas, las de 60 y 80 g, se seleccionaron sujetos con pesos de al menos 67 kg para que las dosis resultantes sean de cómo máximo 1,2 g/kg. Las alcoholemias máximas previsibles se obtendrán con esta dosis. En el caso de los hombres para uno de 67 kg serían 1,7 g/l y en las mujeres 2 g/l.

El tiempo necesario para que el alcohol desaparezca del organismo puede calcularse tomando como promedio una eliminación de 0,15 g/l por hora, según la fórmula siguiente:

$$\text{Tiempo necesario para eliminar el alcohol (h)} = \frac{\text{alcoholemia en (g/l)}}{0,15 \text{ (g/l/h)}}$$

Esto supone que se tardará en eliminar el alcohol, según los cálculos, 11,3 h en el caso de los hombres para y 13,3 h, para las mujeres respectivamente

El tratamiento que se administró a cada voluntario en dosis única fue una solución que se obtuvo mezclando Vodka Absolut y agua Fontvella sabor limón del siguiente modo:

Para calcular los ml de vodka que se debían administrar en cada caso se procedió del siguiente modo:

Tabla 3: Condiciones de tratamiento

Estudio (N=53)	
Cohorte 1 (N=15)	20 g de etanol: 63 ml de Vodka diluidos en 337 ml de agua
Cohorte 2 (N=15)	40 g de etanol: 125 ml de Vodka diluidos en 275 ml de agua.
Cohorte 3 (N=15)	60 g de etanol: 188 ml de Vodka diluidos en 212 ml de agua
Cohorte 4 (N=8)	80 g de etanol: 250 ml de Vodka diluidos en 150 ml de agua.

N: número de sujetos.

Se administró la solución hidroalcohólica de 400 ml en dosis única por vía oral, ambos componentes se mantuvieron en nevera hasta su preparación y consumo. La bebida se consumió en un período de 15 minutos distribuidos en tres recipientes opacos (133 ml cada uno) que se tomaban a intervalos de 5 minutos (un vaso cada 5 minutos).

7.1.3 Sujetos

Los participantes debían ser voluntarios sanos de ambos géneros de entre 18 y 55 años. Los sujetos participantes en este estudio fueron reclutados mediante entrevista telefónica obtenida de la base de datos de voluntarios que han participado previamente en estudios en la Unidad de Investigación.

7.1.4 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- 1) Voluntarios de ambos géneros con edades entre 18 y 55 años.
- 2) Comprender y aceptar los procedimientos del ensayo y firmar un consentimiento informado.
- 3) Historial y examen físico que demuestren no presentar trastornos orgánicos o psiquiátricos.
- 4) El ECG y la analítica general en sangre y orina realizados antes del ensayo deberán estar dentro de los límites de la normalidad. Se admiten variaciones menores o puntuales de los límites de la normalidad si a criterio del Investigador Principal, teniendo en cuenta el estado de la ciencia, no tienen trascendencia clínica, no suponen riesgo para los sujetos y no interfieren en la valoración del producto. Estas variaciones y su no-relevancia serán justificadas por escrito de forma específica.
- 5) El índice de masa corporal ($IMC = \text{peso}/\text{talla}^2$) estará comprendido entre 19 y 29 kg/m^2 , y el peso entre 50 y 100 kg (para las dosis de 60 y 80 g los sujetos deberán pesar mínimo 67 kg)
- 6) Mujeres con un ciclo menstrual de duración entre 26-32 días y que sea regular.
- 7) Sujetos con consumo social o recreacional de alcohol, de al menos 1 UBE/día (acumulado en la semana) y con experiencia de varias borracheras.

Criterios de exclusión

- 1) No cumplir los criterios de inclusión.
- 2) Antecedentes o evidencia clínica de trastornos gastrointestinales, hepáticos, renales o de otro tipo que puedan suponer una alteración

MÉTODOS

de la absorción, distribución, metabolismo o excreción del fármaco, o que sean sugestivos de irritación gastrointestinal por fármacos.

- 3) Antecedentes o evidencia clínica de trastornos psiquiátricos, alcoholismo, abuso de fármacos u otras drogas o consumo habitual de fármacos psicoactivos.
- 4) Haber donado sangre las 8 semanas previas, haber participado en este mismo estudio las 8 semanas previas o haber participado en ensayos clínicos con fármacos en las 12 semanas anteriores.
- 5) Haber padecido alguna enfermedad orgánica o cirugía mayor en los tres meses previos al inicio del estudio.
- 6) Sujetos que presenten intolerancia o hayan presentado reacciones adversas graves al alcohol.
- 7) Haber tomado medicación regularmente en el mes previo a las sesiones del estudio, a excepción de vitaminas, remedios a base de hierbas o complementos dietéticos que, a juicio del Investigador Principal o los colaboradores designados por éste, no supongan riesgo para los sujetos y no interfieran en los objetivos del estudio. Tratamiento con dosis únicas de medicación sintomática en la semana previa a las sesiones del estudio no será motivo de exclusión si se supone que se ha eliminado completamente el día de la sesión experimental.
- 8) Fumadores de >10 cigarrillos al día
- 8) Consumo de más de 20g de alcohol diarios en las mujeres y más de 40g en los hombres.
- 9) Consumidores de más de 5 cafés, té, bebidas de cola, u otras bebidas estimulantes o con xantinas diarios en los 3 meses previos al inicio del estudio.
- 10) Sujetos que no sean capaces de entender la naturaleza del ensayo y los procedimientos que se les solicita seguir.
- 11) Sujetos con serología positiva para hepatitis B, C o VIH.

MÉTODOS

- 12) Mujeres embarazadas o en período de lactancia, o que utilicen anticonceptivos hormonales o no utilicen medidas anticonceptivas fiables durante el estudio (como la abstinencia, los dispositivos intrauterinos, métodos de doble-barrera o con pareja vasectomizada).
- 13) Mujeres con amenorrea o síndrome premenstrual de intensidad severa.
- 14) Sujetos orientales

7.1.4.1 Cálculo del tamaño muestral

El tamaño de la muestra se calculó basándose en varias estimaciones del tamaño muestral necesario con estos datos: Según los datos de un estudio previo realizado en la Unidad (78) con diferentes dosis de alcohol los valores del AUC de 0 a 6h de la concentración del éster etílico de ácido palmitato para 12, 18 y 42 g de alcohol fueron $75,2 \pm 13,4$ ng x h /ml, $123,1 \pm 30,52$ ng x h /ml y $595 \pm 136,3$ ng x h /ml, respectivamente.

Para la comparación entre 10 y 20 g (usando datos de 12 y 18 g previos) son necesarios 12 sujetos por cohorte. Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste bilateral, se precisan 12 sujetos en cada grupo para detectar una diferencia mínima de 47,9 entre dos grupos, asumiendo que existen 4 grupos y una desviación estándar de 30,5. Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 10%.

Para la comparación entre 20 y 40 g (datos de 18g y 42 g previos) son necesarios 3 sujetos. Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste bilateral, se precisan 3 sujetos en cada grupo para detectar una diferencia mínima de 472 entre dos grupos, asumiendo que existen 5 grupos y una desviación estándar de 136. Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 10%. Se hizo lo posible por incluir 8 de cada género, pero finalmente se incluyeron en cada cohorte 15 sujetos,

con lo que se prevé poder encontrar diferencias entre todas las dosis correlativas del estudio para esta variable. Aunque el objetivo del estudio no fue comparar las concentraciones de metabolitos entre los distintos géneros, se considera que con 8 sujetos de cada uno por cohorte será suficiente para detectar diferencias si estas fueran de una magnitud similar a las existentes entre dos dosis correlativas de alcohol. Las pérdidas se estiman en 10 sujetos, de modo que participarán un máximo de 60 voluntarios. El ensayo clínico fue registrado en ClinicalTrials.gov (NCT 02311686).

7.1.5 Variables

El estudio incluía variables adicionales cuyos resultados no se presentan en esta memoria al no estar disponibles de forma completa o no se han evaluado/analizado en el momento de escribir esta memoria, además se considera que no afectan al objetivo principal de este estudio. A continuación, se describen únicamente las variables analizadas cuyos resultados forman parte de la memoria de esta Tesis doctoral.

Variable principal:

- Concentraciones sanguíneas de FAEEs (palmitato, linoleato, oleato estearato y araquidonato). El total de FAEEs corresponde a la suma de los FAEEs analizados en el estudio (palmítato, linoleato, oleato, estereato y araquidonato).

Variables secundarias:

- Concentraciones de etanol en sangre
- Concentraciones de EtG en sangre
- Concentraciones de EtS en sangre
- Excreción urinaria de etanol
- Excreción urinaria de EtG

MÉTODOS

- Excreción urinaria de EtS
- Efectos subjetivos (escala analógica visual que evaluará la sensación de borrachera).
- EAV (Efectos esperados por las distintas dosis de alcohol)
- EAV (Recordatorio máxima sensación de borrachera)
- Escala BAES (Cuestionario de Efectos Bifásicos del Alcohol)
- Cuestionario ARCI (Forma Reducida)
- Cuestionario VESSPA (Valoración de Efectos Subjetivos de Sustancias con Potencial de Abuso)
- Cuestionario de identificación de dosis

Valoración de Seguridad:

- Seguridad y tolerabilidad del alcohol a las dosis empleadas.

Se realizó una analítica de sangre y orina a las 72 h para controlar si hay algún cambio significativo en las enzimas hepáticas y otros parámetros biológicos. También se realizó una revisión médica final a las 72h.

El consumo agudo de alcohol puede producir una gran variedad de efectos. Los efectos agudos del alcohol dependen de la dosis y de la tolerancia de cada individuo. En las fases iniciales de la intoxicación alcohólica predomina el efecto estimulante y después aparecen los efectos sedantes. Para evitar situaciones de riesgo prevenibles los voluntarios no podrán abandonar la Unidad hasta transcurridas 10 horas desde la administración y siempre y cuando los niveles de alcohol en aire espirado sean inferiores al límite legal para la conducción de vehículos (0,25 mg/L en aliento, equivalentes a 0,5 g/L en sangre, para conductores no noveles).

7.1.5.1 *Métodos analíticos*

Las técnicas analíticas utilizadas para determinar las diferentes variables consistirán en un enzimo inmunoensayo para el etanol (DRI® Ethyl Alcohol Assay, Thermo Fisher, Fremont, CA, USA) y etilglucurónido (DRI Ethyl Glucuronide Assay [DRI-EtG EIA], Microgenics Corp, (92), cromatografía líquida de ultra alta resolución (UPLC) acoplada a espectrometría de masas para el etilglucurónido y etilsulfato (desarrolladas en el laboratorio del IMIM) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para los FAEEs (32) (93). Todas estas determinaciones se realizaron en el IMIM.

7.1.6 **Requerimientos del estudio**

Los sujetos debían respetar determinadas restricciones como requerimientos durante su participación. No consumir bebidas alcohólicas en las 72h previas al inicio de cada sesión y hasta una semana después de la sesión experimental. Tampoco debían tener ningún contacto con otras fuentes de etanol (desinfectantes de manos, enjuagues bucales, tinte para el pelo) desde tres días antes de la sesión, No estaba autorizado el consumo de fármacos que no estuviesen autorizados por el Investigador principal o sus colaboradores durante su participación en el estudio. En el caso de terapia sintomática se permitiría en la semana antes de la inclusión en el estudio, siempre que si para el día de la sesión experimental se calculaba que el fármaco ya se había eliminado y que no supusiera riesgo para los sujetos y/o interfiriera en los objetivos del estudio, al igual que el consumo drogas de abuso durante su participación en el estudio estaban prohibidas. Para comprobarlo se les realizaron controles de drogas en orina y etanol en aliento antes de iniciar cada sesión. Como se trataba de un estudio cuyos resultados podían estar influidos por los hábitos dietéticos, los sujetos tenían que tener una dieta baja en triglicéridos 24 horas a la sesión experimental y

MÉTODOS

hasta 24 horas después. Las 24h previas a cada sesión y durante las sesiones experimentales tampoco podían consumir alimentos ricos en xantinas como café, mate, té, coca-cola o chocolate.

Además, dado el carácter voluntario de la participación en el estudio, a los sujetos se le permitía abandonar el mismo sin que fuese necesario especificar las razones que tienen para hacerlo. Los abandonos o retiradas serían sustituidos por nuevos voluntarios de modo que el número de inclusiones sea el prefijado en cada grupo de tratamiento. La retirada o abandono del sujeto comportaba cancelar la sesión experimental y/o la recogida de muestras para la cuantificación de los metabolitos no oxidativos del alcohol, pero todos los voluntarios debían acudir a la visita final si ya han tomado el tratamiento para concluir su participación en el estudio.

7.1.7 Desarrollo del estudio y de las sesiones experimentales

El estudio y las sesiones experimentales se organizaron del siguiente modo:

Visita de selección

Los sujetos se reclutaron a partir de una base de datos de voluntarios sanos de la Unidad de ensayos clínicos del IMIM. Fueron contactados telefónicamente y, tras realizarse un cribado telefónico inicial, fueron citados para la visita de selección que se realizó dentro de las 3 semanas previas al inicio del estudio. En esta visita se informaba al voluntario del estudio oralmente y mediante la hoja de información. Después se respondía a sus dudas y preguntas y si aceptaba verbalmente, se procedía a firmar el consentimiento informado.

A todos los participantes se les realizó una historia clínica y exploración médica, se realizaba un electrocardiograma y una analítica general de

MÉTODOS

sangre y orina. Además, se realizaba una determinación de drogas en orina y de alcohol en aliento. Se pasaba un cribado de alcoholismo (test AUDIT). Para conocer su consumo de alcohol y la tolerabilidad al mismo, se les preguntaba sobre las cantidades de alcohol consumida de forma habitual y el patrón de consumo. Además, se les mostraban algunos de los cuestionarios-escalas de efectos para que marcaran simulando una embriaguez a diferentes dosis de alcohol (similares a las del protocolo).

La analítica general constaba de un perfil bioquímico (glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, sodio, potasio, LDH, CPK, bilirrubina total y directa, AST (GOT), ALT (GPT), gamma-GT (GGT), fosfatasa alcalina, calcio, fósforo, proteínas totales, albúmina, colesterol y triglicéridos), hemograma (hematíes, hemoglobina, hematocrito, recuento y fórmula de leucocitos), coagulación (plaquetas, PTT y TP), serologías (VHB, VHC y VIH), y análisis elemental de orina (pH, glucosa, cuerpos cetónicos, bilirrubina, urobilinógeno, proteínas, hematíes/hemoglobina, leucocitos y nitritos).

Para la inclusión los valores de las analíticas debían encontrarse dentro de los límites de la normalidad. Se admitieron variaciones menores o puntuales de los límites de normalidad si a criterio del Investigador Principal no tenían trascendencia clínica, ni suponían riesgo para los sujetos y/o interferían en la valoración del producto. Estas variaciones y su no-relevancia se justificaban por escrito de forma específica en la Historia clínica.

Todos aquellos sujetos que cumplieran con todos los criterios de inclusión y no cumplieran ningún criterio de exclusión serían considerados aptos para el estudio.

Los voluntarios deberían abstenerse de tomar bebidas alcohólicas las 72 h previas al inicio de la sesión experimental.

Visita Sesión Experimental

Las sesiones experimentales tenían una duración de 10 horas en las que permanecían en la unidad de ensayos clínicos y podrán irse cuando la

MÉTODOS

alcoholemia era inferior a los límites legales aceptados para la conducción de vehículos (0,5 g/l, que se corresponde a 0,25 mg/l en aire espirado para conductores normales y de 0,3 g/L, que se corresponde a 0,15 mg/L para conductores noveles). Incluyendo las dosis más altas en las que se preveía que la alcoholemia sería inferior a ese límite en esas 10 horas.

Antes de la administración

El voluntario/a se presentaba sobre las 7:45 de la mañana, en ayunas de 10 h para alimentos sólidos y 2 horas de ayuno para líquidos. A su llegada se realizaba un test de drogas en orina y una alcoholemia en aire espirado (Etilómetro Dräger®). Se medía el agua corporal total mediante una prueba de bioimpedancia antes de la administración de alcohol. Antes de administrar alcohol también se determinaron en sangre la albúmina y los triglicéridos. Después del desayuno, a las 3 h, se realizó una nueva determinación de triglicéridos. Estas variables podían ayudar a interpretar los resultados del estudio ya que el alcohol se distribuye por el agua corporal, los FAEEs se forman a partir de los ácidos grasos y la albúmina es la proteína que se encarga de transportarlos por el plasma.

Tras estos controles los sujetos de estiraban en una cama durante las siguientes 10 horas. Una vez en reposo en la cama se les colocaba un catéter intravenoso y se le determinaban las constantes vitales: la presión arterial sistólica y diastólica, la frecuencia cardíaca y la temperatura oral mediante monitores específicos (Dinamap® Pro Care, Critikon®, Tampa, FL). Se tomaron muestras de sangre, orina y cabello basales.

Administración

MÉTODOS

Seguidamente se procedía a administrar la bebida que se determinaba previamente (condición). Ésta se administraba en un vaso opaco, fría, durante un período de 15 minutos (133 ml cada 5 min).

Después de administrar

Se realizaron diferentes evaluaciones y extracciones de sangre que se detallan en apartados posteriores y se pueden ver en el esquema del estudio

Tras la administración el voluntario permanecería en la Unidad al menos diez horas en las que se realizarían determinaciones seriadas de constantes vitales por cuestiones de seguridad

El desayuno y la comida el voluntario los recibió en la unidad de ensayos clínicos. En la cena del día previo a la sesión experimental y la del día de la sesión experimental se evitaron los alimentos con alto contenido en triglicéridos, por lo que se aportaron unas recomendaciones dietéticas específicas a los voluntarios.

Las muestras farmacocinéticas realizadas los días sucesivos a la sesión experimental serían muestras obtenidas por pinchazo directo. Se tomaron muestras farmacocinéticas (alcohol y metabolitos) basales, a las 24h, 72h, 1 semana, 1 mes y 2 meses. Se utilizó un tubo con heparina de litio para la determinación de alcohol. Muestras de orina fueron recogidas durante las primeras 72 horas tras el consumo de etanol en intervalos de 6 horas inicialmente (0-6 h, 6-12 h) y a continuación de 12-24h (12-24 h, 24-48 h, 48-72 h). Posteriormente se obtuvieron muestras puntuales de orina a la semana, al 1 mes y 2 meses tras la administración. Cada sujeto participó en una única sesión experimental. La duración total de cada sujeto en el estudio fue de un mínimo de 9 semanas a un máximo de 13 semanas. Al final del estudio los sujetos acudieron a una visita final en los que se les realizaba de nuevo una exploración física.

MÉTODOS

En total contando las analíticas de selección y final se extrajeron unos 400 ml de sangre a cada voluntario.

Evaluaciones durante las sesiones experimentales

Extracciones de sangre y orina

Se obtuvieron muestras farmacocinéticas-biomarcadores (alcohol y metabolitos) basales, y a las 0,25, 0,50, 0,75, 1, 1,25, 1,50, 1,75, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 6, 8 y 10 horas tras el inicio del consumo. Como se ha comentado se recogió también sangre a las 24, 72, 1 semana, 1 mes y 2 meses después.

Las muestras de orina fueron recogidas durante las primeras 72 horas tras el consumo de etanol en intervalos de 6 horas inicialmente (0-6 h, 6-12 h) y a continuación de 12-24h (12-24 h, 24-48 h, 48-72 h).

Constantes vitales

Las constantes vitales: la presión arterial sistólica y diastólica, la frecuencia cardíaca y la temperatura oral mediante monitores específicos (Dinamap® Pro Care, Critikon®, Tampa, FL). Los controles se realizaron a los tiempos basales, y a las 0,50, 1, 1,50, 2, 4, 6, 8 y 10 horas tras el inicio del consumo.

Variables subjetivas

Para la evaluación de los efectos subjetivos y emocionales se emplearon cuatro cuestionarios: escalas analógicas visuales (EAV), el cuestionario efectos Bifásicos del Alcohol (BAES), una forma reducida del Addiction Research Center Inventory-49 item (ARCI), el cuestionario de valoración de efectos subjetivos de sustancias con potencial de abuso (VESSPA).

MÉTODOS

Escalas analógicas visuales (EAV)

Las EAV empleadas medían la sensación de embriaguez de 0 a 10 cm. a las 0, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10 y 24 horas. Los voluntarios evaluaban en los diferentes tiempos establecidos y marcaban una línea perpendicular al trazado horizontal, que reflejaba su grado de embriaguez entre la palabra NADA y la palabra MÁXIMO como la que se muestra a continuación (81,94–96).

Escala efectos bifásicos del alcohol (BAES)

La Escala de Efectos Bifásicos del Alcohol (BAES) versión reducida es una medida fiable y válida de 14 ítems de los efectos agudos estimulantes y sedantes del alcohol, (97) Siete elementos (eufórico, lleno de energía, excitado, estimulado, hablador, animado, vigoroso) comprenden la sub-escala de efectos estimulantes del BAES, y otros siete elementos (dificultad para concentrarse, desanimado, siento la cabeza pesada, inactivo, sedado, pensamiento lento, me siento lento) comprenden la sub-escala de los efectos sedantes. La escala esta numerada del 0-10, donde 0 es la ausencia y 10 la mayor intensidad, el voluntario selecciona el número que mejor evalúa la intensidad del síntoma, se administraron a las 0, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8 y 10 horas. La puntuación en la subescala de estimulación se midió sumando las puntuaciones de 7 ítems de estimulación evaluados individualmente (euforia, lleno de energía, excitación, estimulación, hablador, animado y vigoroso) mientras que la subescala de sedación se obtuvo sumando los resultados individuales de los 7 ítems de sedación (dificultad para concentrarse, desanimado, siento la cabeza pesada, inactivo, sedado, pensamiento lento, me siento lento (físico). La puntuación de la escala sedación se ha obtenido haciendo el promedio de las puntuaciones de los 7 ítems de estimulación, y los mismo se ha hecho

MÉTODOS

para la subescala de sedación, en este caso con los 7 ítems de sedación, por este motivo se obtienen puntuaciones que van de 0 a 10.

Addiction Research Center Inventory (ARCI)

Se utilizó una versión validada en castellano de la forma reducida del Addiction Research Center Inventory (ARCI) que consta de 49 ítems de respuesta verdadero/falso. Este cuestionario posee cinco subescalas: ARCI-MBG (Morphine-Benzedrine Group, medida de euforia), ARCI-PCAG (Pentobarbital-Chlorpromazine-Alcohol Group, medida de sedación), ARCI-LSD (Lysergic acid Diethylamide Scale, medida de disforia y cambios psicotomiméticos), ARCI-BG (Benzedrine Group, medida de eficiencia intelectual) y ARCI-A (Amphetamine, escala sensible a los efectos de las anfetaminas) (81,94–96) se administró antes de dar la administración y a las 10 h post - administración.

Valoración de efectos subjetivos de sustancias con potencial de abuso (VESSPA)

Se utilizó un cuestionario de 36 ítems de respuesta tipo Likert (0-4), desarrollado y validado por investigadores de este Grupo para medir los efectos de la MDMA. Este cuestionario consta de seis subescalas: SA (somatización ansiosa), CP (cambios de percepción), PCS (placer y contacto social), AE (actividad y energía), y PS (síntomatología psicótica) (82,96) se administró antes de dar la administración y a las 10 h,

Cuestionario de identificación de dosis (CID)

MÉTODOS

Al final de cada sesión a las 10h se entregó a cada participante un cuestionario de identificación de dosis. El sujeto debía decidir la equivalencia de la cantidad de alcohol que le ha sido administrada, para ello tenía cuatro opciones que correspondían con las 4 dosis administradas a) dos cañas de cerveza (un combinado), b) cuatro cañas de cerveza (dos combinados), c) seis cañas de cerveza (tres combinados), d) ocho cañas de cerveza (cuatro combinados). A las 24 h la escala analógica visual de recordatorio de la máxima sensación de borrachera el día de la sesión experimental (EAV Recordatorio máxima sensación de borrachera).

Durante las sesiones no se permitió que los voluntarios durmieran y en las primeras cuatro horas no podían realizar ninguna actividad. El desayuno se sirvió a las 2 h de la administración, y consistió en un bocadillo de pan integral de jamón de pavo con tomate y unas gotas de aceite de oliva acompañado de 300 ml de agua. A las 4 h los sujetos recibieron 100 ml de agua para poder generar suficiente cantidad de orina en cada intervalo. Para comer el menú estándar era de primero pasta con salsa de tomate y de segundo pollo a la plancha con lechuga con 300ml de agua. Los sujetos eran dados de alta si la alcoholemia en aire expirado era negativa y estaban en condiciones de hacerlo. A continuación, se muestra en la siguiente tabla Las determinaciones de sangre, constantes vitales y efectos subjetivos de las sesiones experimentales con los procedimientos que se realizaron en cada tiempo.

MÉTODOS

Esquema de las sesiones experimentales del estudio

FECHA	H	HP	HR	ES*	INI	EAV	A/V	BAES	CID	PAS	PAD	FC	T°	INI	OBSERV
___/___/2015	predosis														Orina, saliva cabello basales, genética, bioquímica, expresión génica
HORA INICIO ADMINISTRACIÓN: ___:___ HORA FINAL ADMINISTRACIÓN: ___:___															
	0,25 h														
	0,50 h														Saliva
	0,75 h														
	1 h														OH espirado, Saliva expresión génica
	1,25 h														
	1,5 h														
	1,75 h														
	2 h														OH espirado Saliva, Desayuno (300ml agua)
	2,5 h														
	3 h														Saliva
	3,5 h														
	4 h														Saliva, 100 ml agua expresión génica
	5 h														
	6 h														Saliva Comida (330 ml agua) Orina 0-6h
	8 h														OH espirado expresión génica
	10 h														Saliva OH espirado
	12h														Orina 6-12h
___/___/2015	24 h														Orina12h-24h, Saliva 24h
___/___/2015	72 h														Orina24h-48h, Orina 48h-72h,
<p>H = tiempo; HP = hora prevista; HR = hora real; ES = extracción de sangre; INI = iniciales del que realiza la tarea; EAV = Escala analógica visual; PAS = presión arterial sistólica; PAD = presión arterial diastólica; T° = temperatura oral. Oh: tiempo en que se realiza la administración.</p>															

MÉTODOS

Las zonas sombreadas corresponden a tiempos en que no se determinó la variable en cuestión.

(los resultados de las muestras de saliva no se presentan en esta memoria).

La identificación de todos los datos fue recogida directamente en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) Los datos clínicos y los resultados de las analíticas se registraron en la historia clínica. La duración total del estudio fue de un mínimo de 9 días por voluntario (una semana para la selección, una día para la sesión experimental y el control a las 24h.

El ensayo finalizó con la visita final del último sujeto incluido.

Periodo de inclusión: 12 meses

7.1.8 Métodos de análisis de las muestras

A continuación, se describe el método analítico que se utilizó para analizar cada una de las muestras de sangre u orina.

- Concentraciones de etanol en sangre.

Se determinaron mediante un inmunoensayo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. *Diagnostic Reagent Enzyme Immunoassay (DRI) Ethyl Alcohol Assay* (Thermo Fisher, Fremont, CA, USA).

- Concentraciones de FAEEs, EtG, EtS en sangre

Se determinaron mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem, Las concentraciones plasmáticas de FAEEs se analizaron mediante cromatografía de gases-

MÉTODOS

espectrometría de masas (GC/MS) basada en un método previamente descrito (93), con algunas modificaciones como se describe en (98).

- Concentraciones urinarias de EtG EtS

Se realizó el análisis de etilglucurónido (EtG) y de etisulfato (ETS) por LC/MS/MS se midió con cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC/MS) utilizando un método de dilución y disparo. El sistema LC-MS/MS consistía en un sistema HPLC Agilent serie 1200 (Agilent Technologies) acoplado a un espectrómetro de masas LC-MS (Agilent Technologies) de triple cuadrupolo 6410 con interfaz de electrospray.

7.1.9 Análisis estadístico

Se hizo un análisis descriptivo de todas las variables para cada uno de los tratamientos.

Antes de proceder al análisis de los datos para algunas variables se calcularon las diferencias respecto al valor basal: concentraciones de los biomarcadores de alcohol y las puntuaciones de las variables subjetivas y fisiológicas utilizando la media y la mediana como medidas de la tendencia central y la desviación estándar para cuantificar la dispersión.

Se compararon los resultados de parámetros cinéticos (AUC_{0-t} , C_{max}) de alcohol y metabolitos en sangre con las diferentes dosis, los efectos subjetivos (efecto máximo E_{max} y AUC_{0-t} de la sensación de borrachera y BAES) y las variables de seguridad (constantes vitales) mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía con el tratamiento como factor. Para analizar el efecto de la dosis de alcohol en cada variable, se aplicaron modelos de ANOVA de dos vías con medidas repetidas, incluyendo la dosis de alcohol (20, 40, 60 y 80g OH) y el género como factores, se utilizó la prueba de Tukey para las comparaciones post-hoc por parejas de las dosis de alcohol. Se calculó también el tiempo que se tarda en alcanzar la

MÉTODOS

concentración máxima / efecto máximo (t_{max}) para las distintas variables y la comparación entre dosis se realizará mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Para las determinaciones en orina se calculó la cantidad excretada de cada metabolito en cada intervalo y se compararon las diferentes dosis también mediante una ANOVA de un factor. Si fuese necesario, para algunas variables se realizaría una transformación logarítmica de los datos o se optaría por la prueba no paramétrica correspondiente.

Se especifican los análisis estadísticos utilizadas para las siguientes variables:

En el caso de los efectos subjetivos y las constantes vitales se calcularon las diferencias a la basal de 0 a 10 h. Con estas diferencias se obtuvieron también el efecto máximo (E_{max}) y el AUC de 0 a 10h para cada una de las variables. Para la alcoholemia se obtuvieron el área bajo la curva (AUC) mediante la regla de los trapecoides y la concentración máxima (C_{max}) de 0 a 10h. Para la alcoholemia y los efectos subjetivos se calcularon adicionalmente la t_{max} . Se comparó el AUC y la C_{max} de estas variables mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas con el tratamiento (bebida experimental) como factor. Cuando con el ANOVA se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se hicieron comparaciones múltiples posthoc dos a dos ajustadas mediante el test de Tukey. Se hizo además una comparación del curso temporal entre los distintos tratamientos para cada una de las variables mediante un ANOVA de medidas repetidas con dos factores, (tratamiento y tiempo). De nuevo, cuando la interacción tiempo x tratamiento resultó estadísticamente significativa se hicieron comparaciones múltiples dos a dos para cada punto en el tiempo ajustadas mediante el test de Tukey. La excreción del etilglucurónido y del etilsulfato en orina de 0 a 72 h se

MÉTODOS

comparó mediante una ANOVA de medidas repetidas con el tratamiento como factor. Cuando se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se hicieron comparaciones múltiples dos a dos ajustadas mediante el test de Tukey.

Con respecto al curso temporal, se aplicaron modelos de ANOVA de dos vías incluyendo la dosis de alcohol y el tiempo (0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, y 10 horas después del consumo de alcohol) para los ésteres etílicos de los ácidos grasos (FAEEs), la concentración de alcohol, la concentración del etilglucurónido (EtG) del etilsulfato (EtS) y para las variables fisiológicas (PAS, PAD, FC Y T°).

Todos los análisis se realizaron por separado para hombres y mujeres. Los hombres recibieron cuatro dosis diferentes de alcohol (20g, 40g, 60g y 80g de alcohol) y las mujeres recibieron tres dosis diferentes (20g, 40g y 60g de alcohol). Para los efectos subjetivos se proporciona un análisis descriptivo de los cambios a lo largo del tiempo de los ítems de la Escala Bifásica de Efectos del Alcohol y la EAV. Para analizar la asociación entre la dosis de alcohol y cada variable, se aplicaron modelos de ANOVA de dos vías incluyendo la dosis de alcohol y el tiempo (0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, y 10 horas después del consumo de alcohol) como factores, así como su interacción. Todos los análisis se realizaron por separado para hombres y mujeres. Los hombres recibieron las dosis de alcohol de (40g, 60g y 80g de alcohol), y las mujeres las dosis (20g, 40g y 60g de alcohol), Adicional se utilizó el método de Bland-Altman, que es un método gráfico que permite comparar dos técnicas de medición sobre una misma variable cuantitativa, en este caso para los diferentes momentos de la medición de la EAV Borrachera. Permitiendo, además, calcular los intervalos de confianza de las diferencias y estimar la precisión del resultado. Para ello, se cuantifica la diferencia media entre ambos métodos y un rango de

MÉTODOS

confianza, entre los cuales se espera que se incluyan el 95% de las diferencias entre una técnica de medida y la otra.

Finalmente se calcularon los coeficientes de correlación entre la alcoholemia en las diferentes matrices biológicas, para los FAEEs, EtG y EtS en plasma, y en orina para el EtG EtS, Se usó la correlación de Pearson para evaluar la relación lineal entre dos variables continuas, y la correlación de Spearman a diferencia del anterior, permite obtener un coeficiente de asociación ente variables que no se comportan normalmente.

Los cálculos se realizarán en el Instituto Municipal de Investigación Médica (IMIM) de Barcelona, Todos los análisis estadísticos se realizaron con el R Project for Statistical Computing (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria), versión 3.4.3. En particular, se utilizó el paquete R multcomp1 para las comparaciones múltiples por pares. La significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

8 RESULTADOS

8.1 RESULTADOS VARIABLES FARMACOCINÉTICAS

8.1.1 Características de los participantes y presentación de resultados.

Características de los participantes

En el estudio participaron un total de 53 voluntarios de ambos géneros masculino y femenino. Todos ellos eran consumidores recreacionales de alcohol con experiencia previa en borracheras. La edad, peso y talla promedios y rangos fueron de 23 años para ambos géneros, el peso promedio de 71,84 kg y 61,54 kg para hombres y mujeres respectivamente y el IMC fue de 22,7 kg/m² y 22,67 kg/m². El 33% de todos los voluntarios eran fumadores y consumían etanol regularmente un promedio de 1,88 unidades estándar /día. Del total, el 70% de los participantes había consumido en forma de “binge drinking-atracón”. Para las diferentes cohortes, el consumo de alcohol promedio diario fue para la cohorte de 20g era de 1,8 UBE/día, en la de 40g 2 era de 1,5 UBE/día, en la de 60g fue de 2,2 UBE/día y en la de 80g fue de 2,2 UBE/día. Todos los participantes finalizaron el estudio sin incidencias y los resultados de todos ellos fueron incluidos en el análisis estudio.

RESULTADOS

Tabla 4: Características de los participantes

Mujeres	20g OH	40g OH	60g OH	N/R
Descriptivo	Media±DE	Media±DE	Media±DE	Media±DE
Edad	23±2	25±6,11	22,43±5,19	
Peso	60,13±7,28	59,16±4,5	66,99±6,5	
Talla	162,86±4,02	163,21±4,85	166,43±4,65	
Tabaco (Sí/No)				
Fumador	3	2	1	
Consumo de alcohol (UBE/día)				
Revisión	1,74±0,4	1,61±0,32	1,80±0,68	
Atracón	9,20±1,92	8,71±1,8	9,86±4,71	
Hombres	20g OH	40g OH	60g OH	80g OH
Descriptivo	Media±DE	Media±DE	Media±DE	Media±DE
Edad	24,5±4,44	21,57±1,72	23,13±4,42	26,25±7,01
Peso	72,75±7,37	66,3±6,45	74,49±10,41	78,7±12,20
Talla	178,75±5,63	174,43±7,07	176,88±7,59	180,38±6,09
Tabaco (Sí/No)				
Fumador	2	0	2	2
Consumo de alcohol (UBE/día)				
Revisión	1,95±0,75	1,34±0,55	2,46±0,7	2,23±0,96
Atracón		6,5±3,54	10,14±3,34	10,14±4,02
Ambos géneros	20g OH	40g OH	60g OH	N/R
Descriptivo	Media±DE	Media±DE	Media±DE	Media±DE
Edad	23,8±3,49	23±4,63	22,8±4,63	
Peso	66,86±9,61	62,69±6,27	70,99±9,34	
Talla	171,33±9,49	169,23±8,09	172±8,19	
Tabaco (Sí/No)				
Fumador	5	2	3	
Consumo de alcohol (UBE/día)				
Revisión	1,85±0,6	1,47±0,46	2,15±0,75	
Atracón	9,20±1,92	8,22±2,22	10±3,92	

Presentacion de resultados

Los resultados de las variables farmacocinéticas, fisiológicas y subjetivas para cada género y su comparación entre ambos géneros se presentan en forma de figuras y tabla siguiendo la siguiente secuencia:

Tabla A

Se expone el análisis descriptivo la comparación estadística en mujeres para las tres condiciones de alcohol, 20g, 40g, 60g en referencia al C_{max} o E_{max} (si corresponde a variables no farmacocinéticas), el AUC y T_{max}

RESULTADOS

utilizando la media y la mediana como medidas de la tendencia central y la desviación estándar para cuantificar la dispersión. En hombres la comparación se realiza en cuatro condiciones 20g, 40g, 60g y 80g de alcohol. Posteriormente se describe de forma similar, la comparación estadística entre las dosis en referencia a los mismos parámetros, el C_{max} o E_{max} , el AUC y la T_{max} .

Análisis estadístico

Un valor-p de $p < 0,05$ se fijó como estadísticamente significativo para las diferentes comparaciones. Para analizar la asociación entre la dosis de alcohol y cada variable, se aplicaron modelos de ANOVA para la C_{max} y la AUC, mientras para la T_{max} se utilizó el test no paramétrico de Kruskal Wallis. A continuación, las comparaciones “post-hoc” se realizaron por parejas en función de todas las dosis de alcohol que fueron administradas, en cada ocasión utilizando la prueba de Tukey para la C_{max} y la AUC, mientras que para la T_{max} se utilizó el test de Wilcoxon. Todos los análisis se realizaron por separado para hombres y mujeres y también cuando se realizó la comparación entre ambos géneros.

La Tabla muestra los valores promedios y desviación estándar para la C_{max} aplica para los datos farmacocinéticos con las correspondientes unidades en las diferentes matrices biológicas, En las concentraciones plasmáticas para el alcohol al igual que el EtG y el EtS, la unidades de medida se expresan en mg/dL, para los distintos FAEEs (palmitato, linoleato, oleato, Estearato, araquidonatoy la suma de ellos) los datos se presentan en ng/mL y finalmente para los las concentraciones de EtS y EtG en orina en g/mol.

Para los efectos fisiológicos y los valores subjetivos y emocionales la tabla muestra los valores promedios y desviación estándar para el E_{max}

RESULTADOS

medido con las correspondientes unidades, mmHg (presión arterial sistólica [PAS]; presión arterial diastólica [PAD]), latidos por minuto (frecuencia cardíaca [FC]), grados centígrados-°C (temperatura [T°]), mm (escala visual analógica borrachera [EAV]), Para los efectos Bifásicos del alcohol [BAES], Addiction Research Center Inventory [ARCI], Valoración de efectos subjetivos de sustancias con potencial de abuso [VESSPA]), las unidades son la puntuación de cada subescala. La AUC (unidades·h⁻¹) y la mediana para la T_{max} medida en horas (h) para cada variable resume el análisis estadístico (0 a 10 horas) (ver Esquema)

Tabla B

En esta tabla se detallan los tiempos de evaluación (curso temporal concentración-tiempo [C-T]). Para este análisis, la significación estadística estuvo en un valor-p de $p < 0,05$. Para analizar la asociación entre la dosis de alcohol y cada variable, se aplicaron modelos de ANOVA de dos vías incluyendo la dosis de alcohol y el tiempo (0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, y 10 horas después de la ingesta de alcohol) así como factores como su interacción por separado para hombres y mujeres.

Tabla C

A continuación, se realizaron comparaciones post-hoc por parejas de todas las dosis de alcohol. En cada ocasión usando la prueba de Tukey. Todos los análisis se realizaron por separado para hombres, mujeres y en las filas inferiores de la tabla se resume el análisis de la interacción condición por género en las dosis que compartían ambos géneros.

RESULTADOS

Esquema de las Tablas.

Ejemplo de presentación de los resultados en la Tabla A.

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH			
40g OH			
60g OH			
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH			
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH			
20g OH-60g OH			
40g OH-60g OH			
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH			
40g OH			
60g OH			
80g OH			
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH			
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH			
20g OH-60g OH			
20g OH-80g OH			
40g OH-60g OH			
40g OH-80g OH			
60g OH-80g OH			
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres			
40g OH: Hombres vs Mujeres			
60g OH: Hombres vs Mujeres			

RESULTADOS

Ejemplo de presentación de los resultados en la Tabla B.

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0.5 Horas: 20g vs. 40g		
0.5 Horas: 20g vs. 60g		
0.5 Horas: 40g vs. 60g		
1 Horas: 20g vs. 40g		
1 Horas: 20g vs. 60g		
1 Horas: 40g vs. 60g		
1.5 Horas: 20g vs. 40g		
1.5 Horas: 20g vs. 60g		
1.5 Horas: 40g vs. 60g		
2 Horas: 20g vs. 40g		
2 Horas: 20g vs. 60g		
2 Horas: 40g vs. 60g		
3 Horas: 20g vs. 40g		
3 Horas: 20g vs. 60g		
3 Horas: 40g vs. 60g		
4 Horas: 20g vs. 40g		
4 Horas: 20g vs. 60g		
4 Horas: 40g vs. 60g		
6 Horas: 20g vs. 40g		
6 Horas: 20g vs. 60g		
6 Horas: 40g vs. 60g		
8 Horas: 20g vs. 40g		
8 Horas: 20g vs. 60g		
8 Horas: 40g vs. 60g		
10 Horas: 20g vs. 40g		
10 Horas: 20g vs. 60g		
10 Horas: 40g vs. 60g		

RESULTADOS

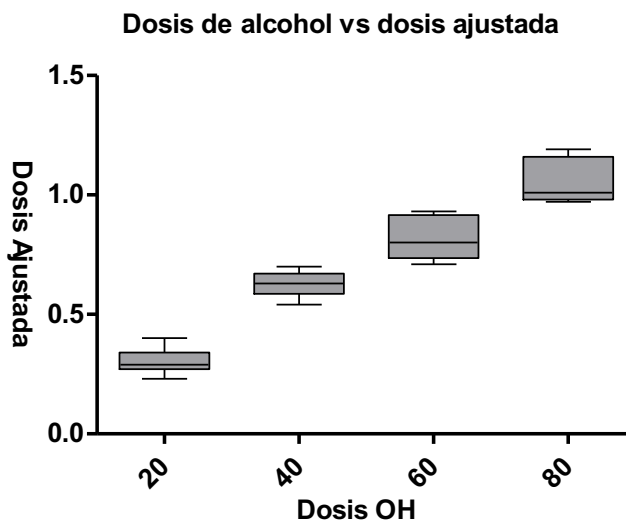
Ejemplo de presentación de los resultados en la Tabla C.

Mujeres	Alcohol	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo		
Hombres	Alcohol	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo		
Ambos Géneros	Alcohol	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo		

8.1.2 Dosis de alcohol vs. Dosis ajustada al peso

En la siguiente figura (figura 5) se muestra que a pesar de que en el estudio la dosis de alcohol no se ajustó al peso, no hubo apenas solapamiento entre las dosis correlativas cuando éstas se ajustaron en toda la muestra. Como regla general, las mujeres pesaron menos en todas las dosis (20, 40 y 60g), mientras los hombres pesaron mas. Las dosis de 40 y 60 g fueron las más parecidas entre ellas.

Figura 5: Boxplot de la dosis ajustada por dosis de alcohol



8.1.3 Concentraciones plasmáticas

8.1.3.1 Concentraciones de alcohol en sangre

Las concentraciones de alcohol en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis en hombres y mujeres (Figura 6a y 6b) Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} y en el AUC para las diferentes dosis y géneros. La T_{max} mostró diferencias significativas en los hombres. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones se encontraron diferencias significativas de la C_{max} y en el AUC para hombres y mujeres en todas las comparaciones. En hombres la T_{max} fue estadísticamente significativa para la comparación de 20g vs 80g. Las concentraciones totales de alcohol (AUC) aumentaron de forma no proporcional (no lineal) a las dosis de forma clara en los hombres (Tabla 5). Cuando se realiza comparación entre ambos géneros también se encontraron diferencias estadísticas para la C_{max} y la AUC para todas las dosis. (Tabla 5). Se observaron concentraciones mayores en mujeres que en hombres al administrar la misma dosis.

En referencia al curso temporal (Tabla 6), para las diferentes dosis de alcohol, se encontraron diferencias significativas en hombres y en mujeres a las 0,5, 1,1,5, 2, 3, 4 y 6 horas para las dosis de 20g vs 60g, para las dosis 20g vs 40g las diferencias se encontraron a las 1,5h 2 y 3 horas post-administración.

En mujeres adicionalmente se encontraron diferencias a la 1 hora entre las dosis de 20g vs 40g, a las 2h entre 40g vs 60g y las 4h para 20g vs 40g. En hombres a la 1 hora y a las 1,5 horas para la dosis de 40 g vs 60 g. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas. (Tabla 7)

RESULTADOS

Figura 6 (a). Concentraciones de alcohol de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

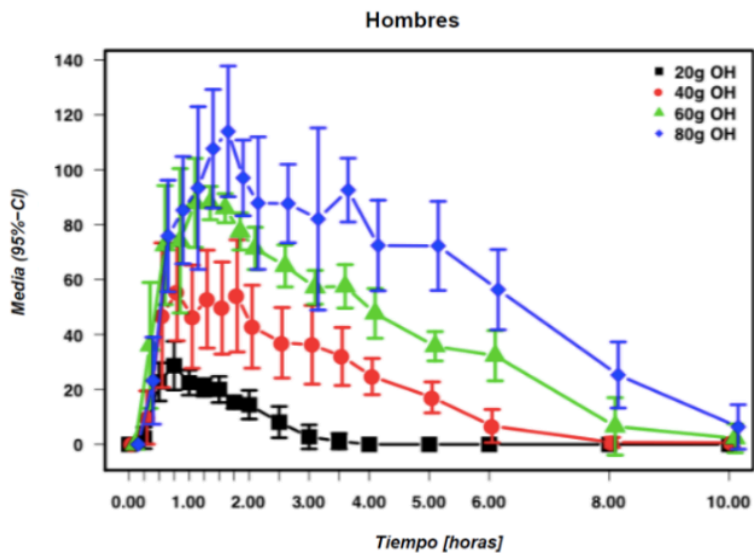
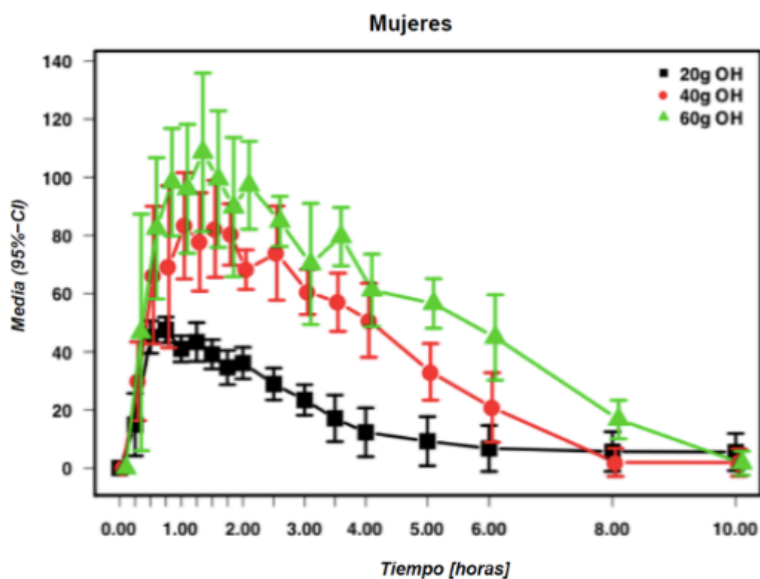


Figura 6 (b). Concentraciones de alcohol de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 5: Concentraciones de alcohol (OH) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC.

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	50,9±1,7	0,75	161±54,6
40g OH	93,1±15,3	1,50	352±76,9
60g OH	127,0±17,4	1,00	514±47,2
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,075	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	0,069	<0,001
20g OH-60g OH	<0,001	0,459	<0,001
40g OH-60g OH	<0,001	0,284	<0,001
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	30,8±9,11	0,75	44,6±13,7
40g OH	77,3±14,76	1,00	216,1±33,9
60g OH	98,6±13,05	1,12	382,8±54,3
80g OH	123,9±23,09	1,25	581,5±142,4
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,047	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	0,302	<0,001
20g OH-60g OH	<0,001	0,305	<0,001
20g OH-80g OH	<0,001	0,036	<0,001
40g OH-60g OH	0,036	0,924	<0,001
40g OH-80g OH	<0,001	0,995	<0,001
60g OH-80g OH	0,008	0,763	<0,001
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,011	0,991	<0,001
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,049	0,350	<0,001
60g OH: Hombres vs Mujeres	<0,001	0,910	<0,001

RESULTADOS

Tabla 6: Concentraciones de alcohol. Comparación “Post-hoc” Tukey tests del Curso temporal (hombres: H; mujeres. M)

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,146	0,063
0,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,177	0,627
1 Horas: 20g vs 40g	0,159	<0,001
1 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1 Horas: 40g vs 60g	<0,001	0,921
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,019	<0,001
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1,5 Horas: 40g vs 60g	<0,001	0,509
2 Horas: 20g vs 40g	0,031	<0,001
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
2 Horas: 40g vs 60g	0,061	0,005
3 Horas: 20g vs 40g	0,003	<0,001
3 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,578	0,996
4 Horas: 20g vs 40g	0,125	<0,001
4 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	0,370	0,991
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,614
6 Horas: 20g vs 60g	0,012	<0,001
6 Horas: 40g vs 60g	0,225	0,051
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,947
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,767
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 7: Alcohol. Diferencias entre géneros en curso temporal

Mujeres	Alcohol	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	5,891	<0,001
Hombres	Alcohol	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	6,103	<0,001
Ambos Géneros	Alcohol	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	8,714	<0,001

8.1.3.2 Concentraciones de Etilsulfato

Las concentraciones de etilsulfato en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis en hombres y mujeres (Figura 7a y 7b). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la C_{max} y en el AUC para las diferentes dosis y géneros. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} , T_{max} y en el AUC en todas las dosis excepto en la T_{max} en la comparación de (40g 60g). En hombres las comparaciones de las dosis de 20g-80g fué estadísticamente significativas en la C_{max} , T_{max} y en el AUC y en la de 40g-80g lo fué para la C_{max} y AUC. Las concentraciones totales de etilsulfato (AUC) aumentaron de forma no proporcional (no lineal) a las dosis de forma clara en los hombres y mujeres (Tabla 8). Cuando se realizó la comparación entre ambos géneros. Se encontraron diferencias estadísticas en las dosis 20 y 60g para la C_{max} y en la de 60g para el AUC, (Tabla 8).

En referencia al curso temporal (Tabla 9), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias significativas en mujeres a las 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8 y 10 horas post-administración para las dosis de 20g vs 40g, 20g vs 60g, 40g vs 60g, a excepción de la dosis de 20g vs 40g a la 1, 8 y 10 horas. En hombres se encontraron diferencias a las 4 horas entre las dosis de 20g vs 60g. Llama la atención que, aunque la AUC se realizó hasta 10 horas, se detectaron concentraciones en algunos voluntarios hasta las 20h, para las dosis de 60g y 80g

Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas. (Tabla 10).

RESULTADOS

Figura 7(a). Concentraciones de etilsulfato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

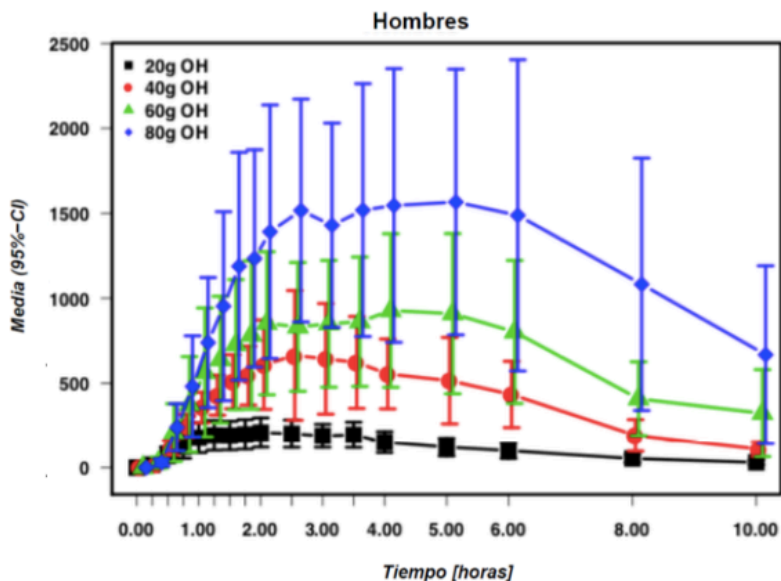
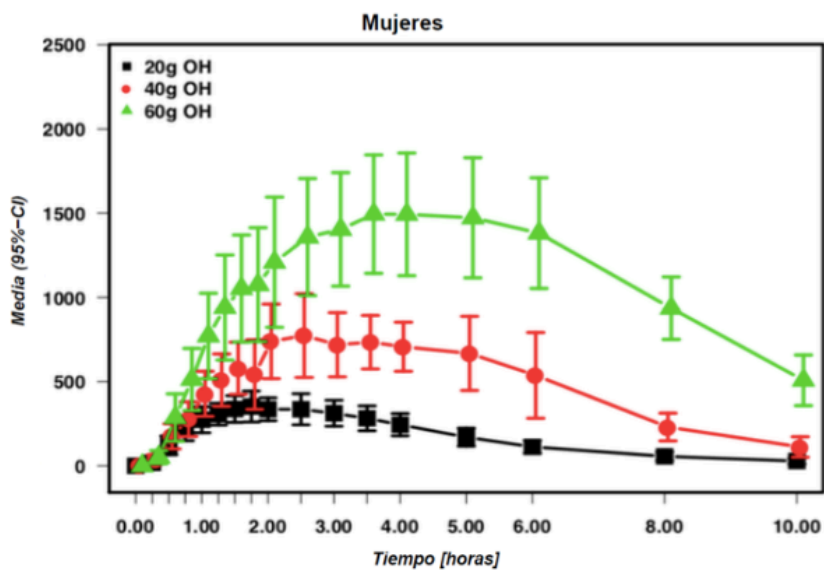


Figura 7(b). Concentraciones de etilsulfato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 8: Concentraciones de Etilsulfato (EtS) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	361,6±94,6	2,00	1657,9±470
40g OH	813,4±266,6	3,00	4600,8±1387
60g OH	1434,3±392,0	4,00	10796,6±2716
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,002	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,015	0,011	0,017
20g OH-60g OH	<0,001	0,002	<0,001
40g OH-60g OH	<0,001	0,150	<0,001
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	229,8 ±99,9	2,50	1137,3±525
40g OH	697,3±445,3	3,00	3818,2±1957
60g OH	977,2±528,1	3,75	6367,2±3738
80g OH	1526,3±716,4	3,75	11759,8±7964
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,121	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,441	0,632	0,639
20g OH-60g OH	0,095	0,120	0,118
20g OH-80g OH	<0,001	0,043	<0,001
40g OH-60g OH	0,801	0,223	0,675
40g OH-80g OH	0,012	0,121	0,008
60g OH-80g OH	0,094	0,873	0,102
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,022	0,231	0,066
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,494	0,598	0,395
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,039	0,859	0,023

RESULTADOS

Tabla 9: Etilsulfato. Comparaciones Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,990	0,992
0,5 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,730
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,923	0,995
1 Horas: 20g vs 40g	0,737	0,196
1 Horas: 20g vs 60g	0,963	<0,001
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,026
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,268	0,004
1,5 Horas: 20g vs 60g	0,544	<0,001
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	<0,001
2 Horas: 20g vs 40g	0,108	<0,001
2 Horas: 20g vs 60g	0,212	<0,001
2 Horas: 40g vs 60g	1,000	<0,001
3 Horas: 20g vs 40g	0,054	<0,001
3 Horas: 20g vs 60g	0,179	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	1,000	<0,001
4 Horas: 20g vs 40g	0,104	<0,001
4 Horas: 20g vs 60g	0,041	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	1,000	<0,001
6 Horas: 20g vs 40g	0,231	<0,001
6 Horas: 20g vs 60g	0,110	<0,001
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	<0,001
8 Horas: 20g vs 40g	0,861	0,096
8 Horas: 20g vs 60g	0,987	<0,001
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	<0,001
10 Horas: 20g vs 40g	0,965	0,876
10 Horas: 20g vs 60g	0,999	<0,001
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,004

RESULTADOS

Tabla 10: Etilsulfato. Diferencias entre géneros en curso temporal

Mujeres		
	Etilsulfato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis ×Tiempo	18,671	<0,001
Hombres		
	Etilsulfato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis ×Tiempo	6,540	<0,001
Ambos Géneros		
	Etilsulfato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis ×Tiempo	12,318	<0,001

RESULTADOS

8.1.3.3 Concentraciones de Etilglucurónido

Las concentraciones de etilglucurónido en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumenta la dosis en hombres y mujeres (Figura 8a y 8b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} , T_{max} , y AUC para las diferentes dosis y géneros. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} , T_{max} y la AUC, en todas las comparaciones, excepto para la T_{max} , en la comparación de 40g vs 60g. En hombres, las comparaciones de las dosis de 20g (20g-40g, 20g-60g, 20g-80g) fueron estadísticamente significativas para la C_{max} , T_{max} y AUC al igual que en la comparación de 40g vs 80g en la C_{max} y AUC, mientras que la comparación de 60g vs 80g solo fue significativa en la AUC. Las concentraciones totales de etilglucurónido (AUC) aumentaron de forma no proporcional (no lineal) a las dosis de forma clara en hombres y mujeres (Tabla 11). Cuando se realizó comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la AUC en la dosis de 60g (Tabla 11).

En referencia al curso temporal (Tabla 12), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y en mujeres a las 2, 3, 4, 6, 8 y 10 horas para las dosis de 20g vs 40g y las de 20g vs 60g. En mujeres se encontraron diferencias también en la las 3, 4, 6 y 8 horas post-administración entre las dosis de 40g vs 60g. Adicionalmente también a las 8 horas en las dosis 20g vs 40g y 40g vs 60g.

Llama la atención que, aunque la AUC se realizó hasta 10 horas, se detectaron concentraciones en algunos voluntarios hasta las 20h, para las dosis de 60g y 80g

Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 13).

RESULTADOS

Figura 8 (a). Concentraciones de etilglucurónido de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

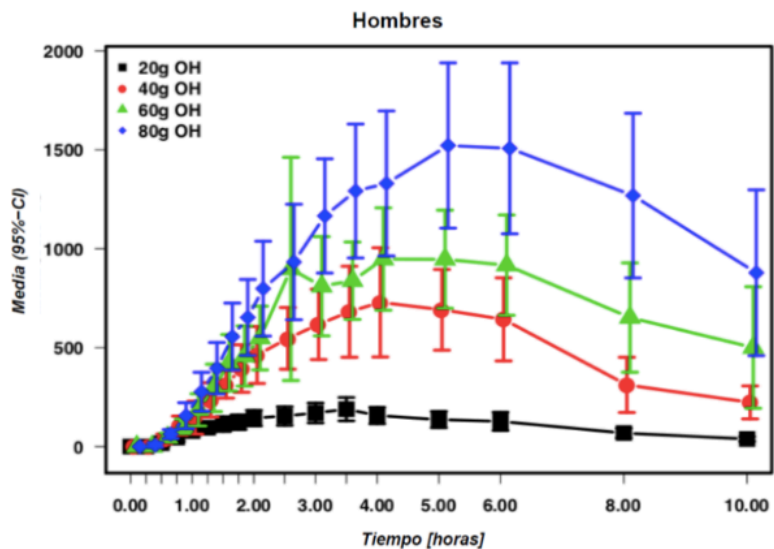
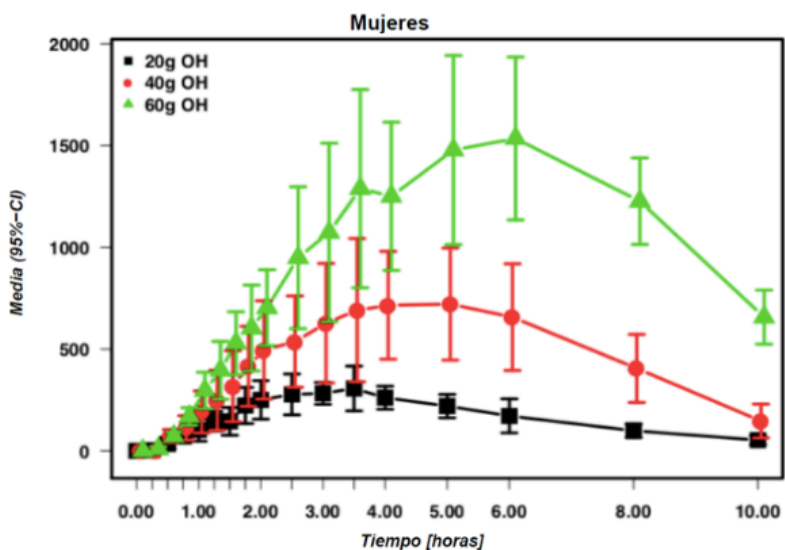


Figura 8 (b). Concentraciones de etilglucurónido de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 11: Concentración de etilglucurónido (EtG) valores y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	325±107	3,00	1636±523
40g OH	822±363	5,00	4655±1928
60g OH	1560±486	6,00	10268±2729
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	<0,001	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,002	0,026	0,009
20g OH-60g OH	<0,001	<0,001	<0,001
40g OH-60g OH	<0,001	0,223	<0,001
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	192±69,5	3,25	1047±369
40g OH	789±321,6	4,50	4452±1606
60g OH	1240±574,6	4,50	6693±2023
80g OH	1594±537,6	5,00	10716±3640
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,009	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,018	0,039	0,008
20g OH-60g OH	<0,001	0,043	<0,001
20g OH-80g OH	<0,001	0,013	<0,001
40g OH-60g OH	0,132	0,967	0,151
40g OH-80g OH	<0,001	1,000	<0,001
60g OH-80g OH	0,180	1,000	<0,001
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,848	0,698	0,874
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,997	0,857	0,993
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,159	0,193	<0,001

RESULTADOS

Tabla 12: Etglucurónido. Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
0,5 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
0,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,992
1 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,704
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,999
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,607	0,482
1,5 Horas: 20g vs 60g	0,190	0,008
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,654
2 Horas: 20g vs 40g	0,051	0,071
2 Horas: 20g vs 60g	0,014	<0,001
2 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,680
3 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
3 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,997	<0,001
4 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
4 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	0,976	<0,001
6 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
6 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
6 Horas: 40g vs 60g	0,726	<0,001
8 Horas: 20g vs 40g	0,308	0,007
8 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
8 Horas: 40g vs 60g	0,246	<0,001
10 Horas: 20g vs 40g	0,717	0,987
10 Horas: 20g vs 60g	0,002	<0,001
10 Horas: 40g vs 60g	0,698	<0,001

RESULTADOS

Tabla 13: Etilglucurónido. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres		
	Etilglucurónido	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	16,750	<0,001
Hombres		
	Etilglucurónido	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	9,624	<0,001
Ambos Géneros		
	Etilglucurónido	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	12,318	<0,001

8.1.3.4 Concentraciones de Etil palmitato

Las concentraciones del etil palmitato en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 9 a y 9 b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} , y AUC para las diferentes dosis y géneros. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas para todas las comparaciones en la C_{max} y en la AUC. En hombres las diferencias significativas en la C_{max} , se encontraron en las comparaciones de las dosis de 20g (20g-40g, 20g-60g, 20g-80g) y la AUC mostro diferencias estadísticamente significativas para todas las comparaciones entre dosis. Cuando se realizó comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la T_{max} en la dosis de 40g, y la AUC en la de 60g (Tabla 14).

En referencia al curso temporal (Tabla 15), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y en mujeres a las 1, 1,5, 2, 3, y 4 horas para las dosis de 20g vs 40g y las de 20g vs 60g que también se encontró a las 0,5 horas post-administración. En mujeres se encontraron diferencias a partir de la hora 3, para las dosis de 40g vs 60g, en la hora 4 en la de 20g vs 40g, y finalmente a la hora 6 para las dosis 20g vs 60g y 40g vs 60g, respectivamente. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla16)

RESULTADOS

Figura 9 (a). Concentraciones de Etil palmitato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

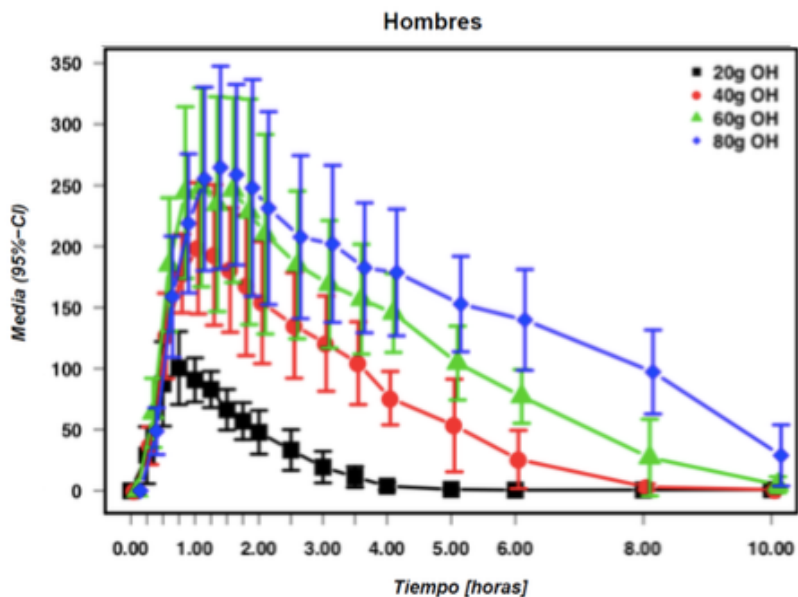
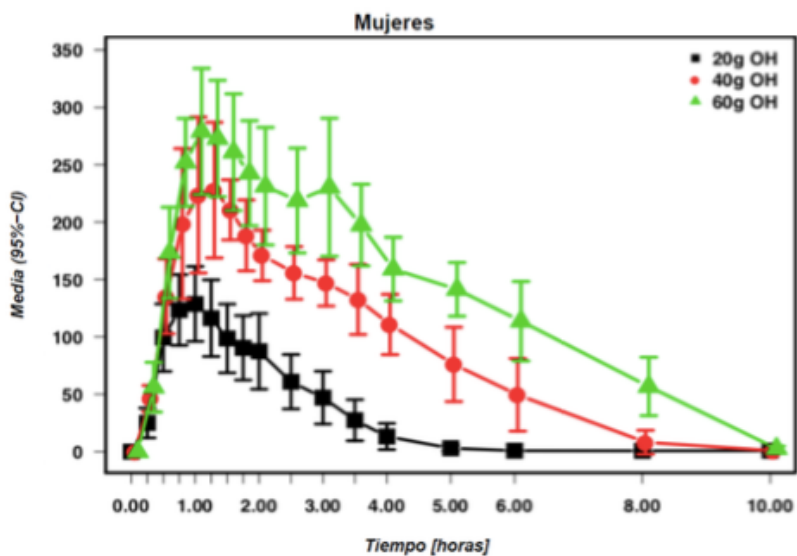


Figura 9 (b). Concentraciones de Etil palmitato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 14: Concentración de Etil palmitato y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	133±35,3	1,00	287±94,2
40g OH	233±68,4	1,50	840±185,9
60g OH	295±57,3	1,00	1342±234,4
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,061	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	0,061	<0,001
20g OH-60g OH	<0,001	0,448	<0,001
40g OH-60g OH	0,005	0,237	<0,001
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	104±31,7	0,75	185±71,1
40g OH	207±63,6	1,00	664±242,0
60g OH	271±88,8	1,12	1085±285,5
80g OH	285±104,5	1,12	1466±456,9
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,169	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,015	0,759	<0,001
20g OH-60g OH	<0,001	0,288	<0,001
20g OH-80g OH	<0,001	0,350	<0,001
40g OH-60g OH	0,204	1,000	0,020
40g OH-80g OH	0,177	1,000	<0,001
60g OH-80g OH	1,000	0,869	0,010
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,107	0,594	0,557
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,999	0,045	0,311
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,834	0,461	0,044

RESULTADOS

Tabla 15: Etil palmitato. Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,862	0,945
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,002	0,009
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,533	0,390
1 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
1 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1 Horas: 40g vs 60g	0,817	0,036
1,5 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,300	0,081
2 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
2 Horas: 40g vs 60g	0,616	0,015
3 Horas: 20g vs 40g	<0,001	<0,001
3 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,855	<0,001
4 Horas: 20g vs 40g	0,065	<0,001
4 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	0,195	0,110
6 Horas: 20g vs 40g	0,998	0,441
6 Horas: 20g vs 60g	0,051	<0,001
6 Horas: 40g vs 60g	0,768	0,007
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	0,999	0,174
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,105
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 16: Etil palmitato. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	Palmitato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	7,688	<0,001
Hombres	Palmitato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	4,920	<0,001
Ambos Géneros	Palmitato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	8,849	<0,001

8.1.3.5 Concentraciones de Etil linoleato

Las concentraciones del etil linoleato en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 10a y 10b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} , T_{Max} y AUC, para las diferentes dosis en mujeres, mientras que en hombres no se encontraron diferencias en la T_{max} . En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} y la AUC, para la comparación 20g-40g, 20g-60g, al igual que la 20g-40g en la T_{max} . En hombres diferencias significativas en la C_{max} y en la AUC se encontraron en las comparaciones de las dosis de (20g-60g, 20g-80g), También la comparación 40g-80g fue estadísticamente significativa en la AUC. Cuando se realizó la comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la C_{max} en la dosis de 60g (Tabla 17),

En referencia al curso temporal (Tabla 18), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y en mujeres a las 1, 1,5, 2, 3, y 4 horas para las dosis de 20g vs 60g. post- administración En hombres también se encontró a las 0.5 horas. En mujeres se encontraron diferencias a las 1, 1,5, 3, y 4 horas para las dosis de 20g vs 40g. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 19).

RESULTADOS

Figura 10(a). Concentraciones de Etil linoleato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

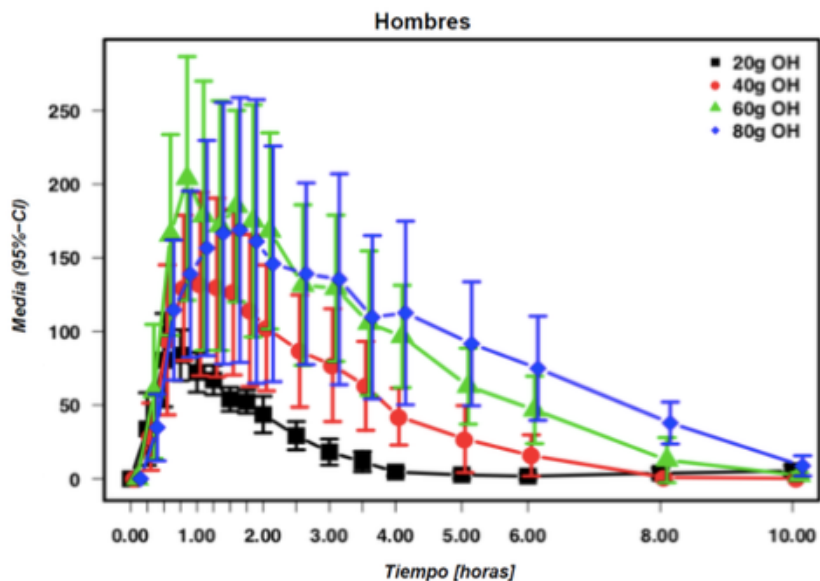
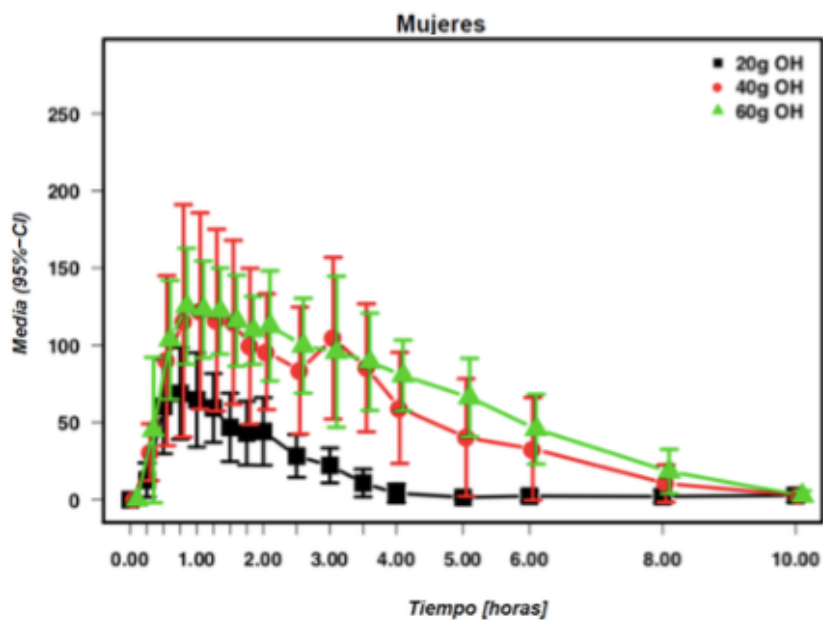


Figura 10(b). Concentraciones de Etil linoleato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 17: Concentración de Etil linoleato y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	76,6±33,0	0,75	151±69,6
40g OH	137,5±62,6	1,50	503±290,5
60g OH	150,9±39,1	1,25	605±198,3
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,032	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	0,034	<0,001
20g OH-60g OH	<0,001	0,126	<0,001
40g OH-60g OH	0,765	0,498	0,587
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	93,3±24,1	0,75	178±37,7
40g OH	146,8±65,3	0,88	425±215,8
60g OH	233,3±104,2	0,88	764±327,8
80g OH	198,5±108,2	1,25	855±463,0
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	0,004	0,405	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,461	0,737	0,227
20g OH-60g OH	0,003	1,000	<0,001
20g OH-80g OH	0,031	0,796	<0,001
40g OH-60g OH	0,176	1,000	0,150
40g OH-80g OH	0,551	0,956	0,010
60g OH-80g OH	0,830	1,000	0,732
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,779	0,506	0,970
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,970	0,059	0,880
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,031	0,166	0,404

RESULTADOS

Tabla 18: Etil linoleato Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,208
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,049	0,133
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,324	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	0,264	<0,001
1 Horas: 20g vs 60g	0,002	0,009
1 Horas: 40g vs 60g	0,984	1,000
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,068	<0,001
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,765	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	0,292	0,001
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
2 Horas: 40g vs 60g	0,504	1,000
3 Horas: 20g vs 40g	0,289	<0,001
3 Horas: 20g vs 60g	0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,920	1,000
4 Horas: 20g vs 40g	0,912	<0,001
4 Horas: 20g vs 60g	0,019	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	0,874	0,992
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,174
6 Horas: 20g vs 60g	0,952	0,126
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,997
8 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,985
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 19: Etil linoleato. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	Linoleato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,131	<0,001
Hombres	Linoleato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	2,876	<0,001
Ambos Géneros	Linoleato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	4,310	<0,001

8.1.3.6 Concentraciones de Etil oleato

Las concentraciones del etil oleato en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 11a y 11b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} , T_{Max} y AUC, para las diferentes dosis en mujeres, pero en hombres no se encontraron diferencias en la T_{max} . En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} y la AUC. Para la comparación 20g-40g, 20g-60g, al igual que la 20g-40g en la T_{max} . En hombres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} y en la AUC en las comparaciones de las dosis de (20g-60g, 20g-80g), También la comparación 40g-80g fue estadísticamente significativa en la AUC. Cuando se realizó comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la C_{max} en la dosis de 60g (Tabla 20).

En referencia al curso temporal (Tabla 21), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y en mujeres a las 1, 1,5, 2, 3, y 4 horas para las dosis para las dosis de 20g vs 60g post-administración. En mujeres se encontraron diferencias a las 1, 1,5, 3, y 4 horas para las dosis de 20g vs 40g. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 22).

RESULTADOS

Figura 11(a). Concentraciones de Etil oleato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

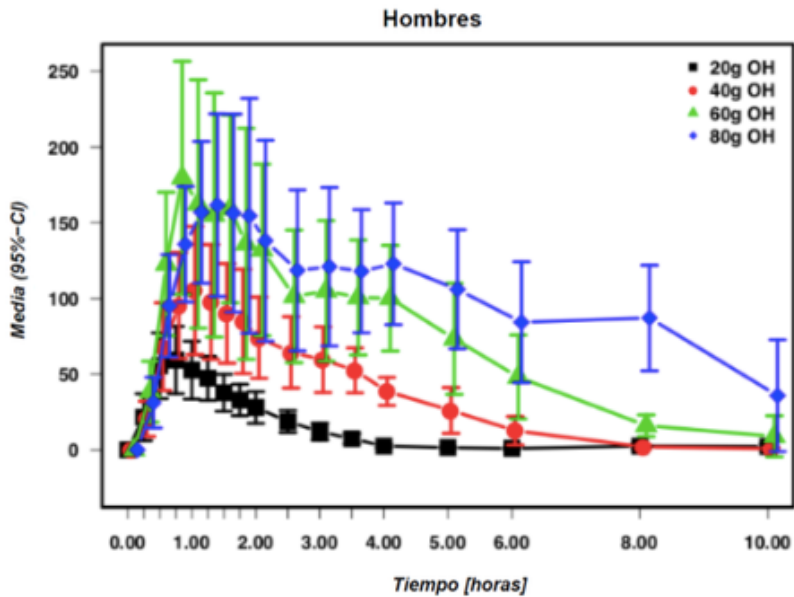
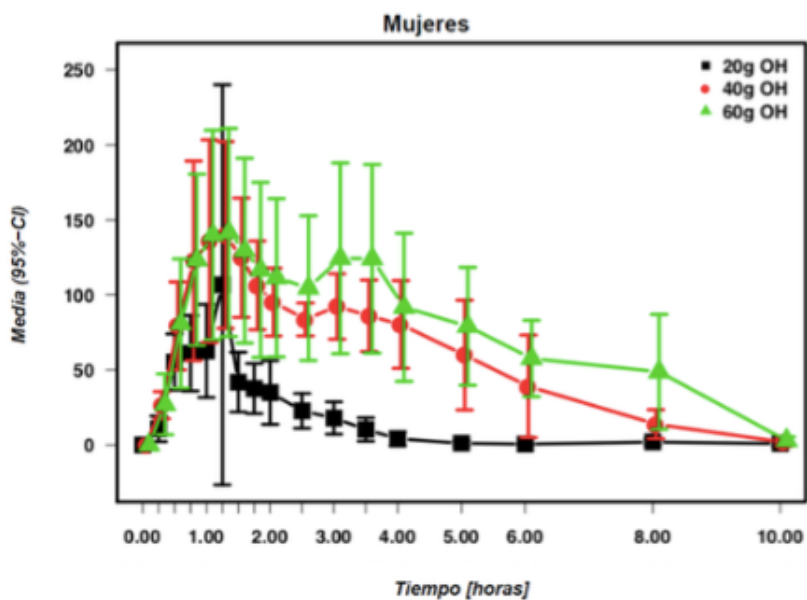


Figura 11(b). Concentraciones de Etil oleato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 20: Concentración Etil oleato y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	127±134,6	1,00	143±67,6
40g OH	149±64,7	1,50	559±201,4
60g OH	184±45,1	1,12	867±185,0
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,102	0,091	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,113	0,086	<0,001
20g OH-60g OH	0,410	0,491	<0,001
40g OH-60g OH	0,887	0,347	0,002
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	63,4±27,5	0,75	118±37,5
40g OH	109,5±49,1	1,00	335±126,3
60g OH	201,1±99,8	0,75	703±273,0
80g OH	194,9±78,6	1,38	994±347,0
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,009	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,435	0,318	0,123
20g OH-60g OH	<0,001	0,407	<0,001
20g OH-80g OH	<0,001	0,005	<0,001
40g OH-60g OH	0,061	0,730	0,010
40g OH-80g OH	0,049	0,326	<0,001
60g OH-80g OH	1,000	0,184	0,014
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,265	0,166	0,990
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,401	0,021	0,031
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,971	0,330	0,202

RESULTADOS

Tabla 21: Etil oleato. Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,076	0,999
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,625	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	0,158	0,003
1 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,012
1 Horas: 40g vs 60g	0,511	1,000
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,161	<0,001
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,002
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,135	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	0,334	0,054
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,013
2 Horas: 40g vs 60g	0,484	0,993
3 Horas: 20g vs 40g	0,289	0,002
3 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,929	0,641
4 Horas: 20g vs 40g	0,733	0,001
4 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,002
4 Horas: 40g vs 60g	0,337	1,000
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,829
6 Horas: 20g vs 60g	0,672	0,222
6 Horas: 40g vs 60g	0,999	0,982
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,571
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,530
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 22: Etil oleato. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	Oleato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,653	<0,001
Hombres	Oleato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	2,750	<0,001
Ambos Géneros	Oleato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	4,178	<0,001

8.1.3.7 Concentraciones de Etil Estearato

Las concentraciones del etil estearato en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 12a y 12b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} y AUC para las diferentes dosis en mujeres, mientras que en hombres se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la C_{max} , T_{max} y AUC. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} para la comparación 20g-40g, siendo significativas para la AUC en todas las comparaciones. En hombres las diferencias significativas en la C_{max} se encontraron en las comparaciones de las dosis de (20g-60g, 20g-80g) y (40g-60g-40g-80g). La T_{max} , solo mostro diferencias significativas para la comparación 20g-80g y finalmente la AUC fue estadísticamente significativa para todas las comparaciones. Cuando se realizó la comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables (Tabla 23).

En referencia al curso temporal (Tabla 24), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y en mujeres a las 1, 1,5 y 3, horas para las dosis para las dosis de 20g vs 40g y 20g vs 60g. Las diferencias en la dosis de 20g vs 60g continuaron hasta las 4 y 6h. Diferenciado por géneros, en mujeres se encontraron diferencias a las 3h, para las dosis de 40g vs 60g y a las 4 horas para las dosis de 20g vs 40g. En hombres las diferencias se encontraron a las 0.5 h para dosis de 20g vs 60g, a la 1.5 y 4 h para la dosis de 40g vs 60g y finalmente en todas las condiciones a las 2 horas post administración. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 25).

RESULTADOS

Figura 12(a). Concentraciones de Etil estearato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

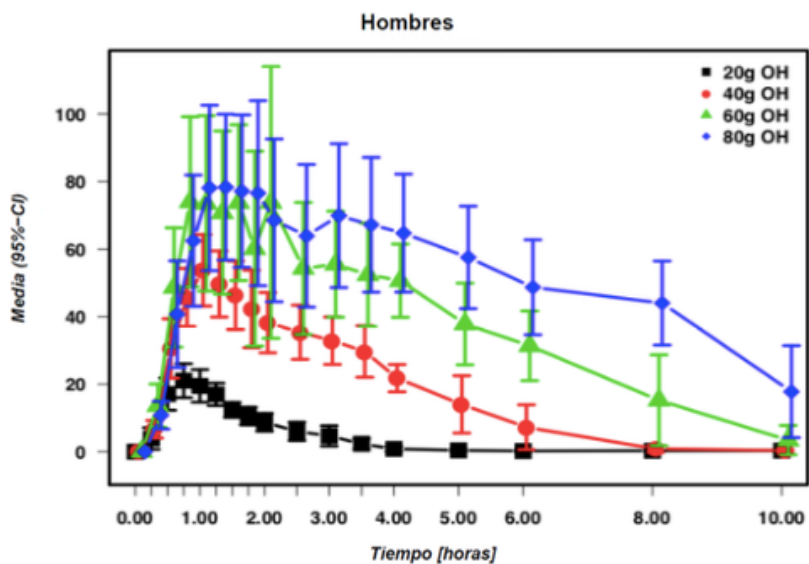
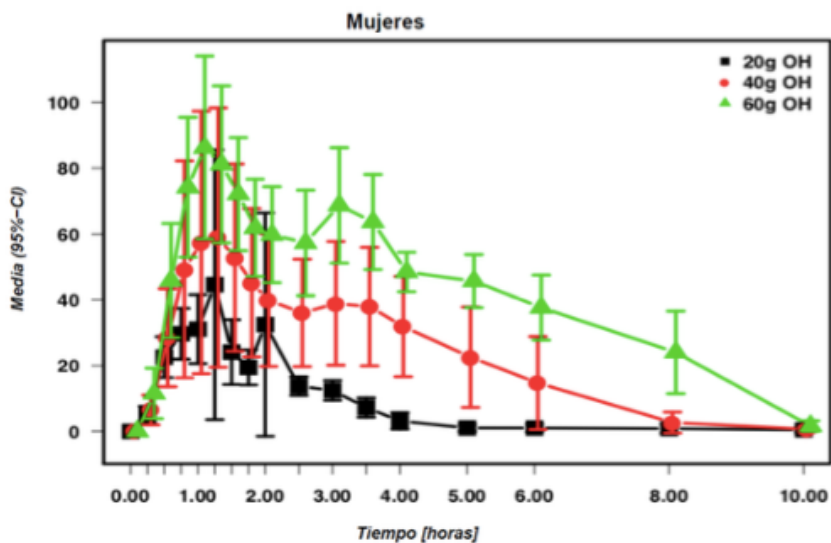


Figura 12(b). Concentraciones de Etil estearato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 23: Concentración Etil estearato y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres			
	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	49,1±42,3	1,00	80±25,7
40g OH	73,1±35,5	1,38	257±91,2
60g OH	91,1±27,6	1,00	414±76,8
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,056	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	0,086	<0,001
20g OH-60g OH	0,052	0,867	<0,001
40g OH-60g OH	0,647	0,087	<0,001
Hombres			
	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	22,2±4,68	0,75	37,3±9,32
40g OH	55,1±12,56	1,00	175,2±44,66
60g OH	98,1±41,47	1,25	369,1±90,13
80g OH	91,9±33,01	1,12	517,2±142,28
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,023	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,076	0,667	<0,001
20g OH-60g OH	<0,001	0,070	<0,001
20g OH-80g OH	<0,001	0,048	<0,001
40g OH-60g OH	0,009	0,407	<0,001
40g OH-80g OH	0,036	0,368	<0,001
60g OH-80g OH	0,969	0,847	<0,001
Ambos géneros			
	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,126	0,315	0,171
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,374	0,051	0,064
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,956	0,164	0,445

RESULTADOS

Tabla 24: Etil Estearato. Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,910	1,000
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,003	0,239
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,660	0,749
1 Horas: 20g vs 40g	<0,001	0,029
1 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1 Horas: 40g vs 60g	0,478	0,057
1,5 Horas: 20g vs 40g	<0,001	0,011
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,040	0,587
2 Horas: 20g vs 40g	0,010	0,999
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,077
2 Horas: 40g vs 60g	0,001	0,538
3 Horas: 20g vs 40g	0,017	0,028
3 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,226	0,042
4 Horas: 20g vs 40g	0,248	0,011
4 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	0,022	0,810
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,816
6 Horas: 20g vs 60g	0,004	0,002
6 Horas: 40g vs 60g	0,141	0,296
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	0,789	0,245
8 Horas: 40g vs 60g	0,943	0,414
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 25: Etil Estearato. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	Estearato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,065	<0,001
Hombres	Estearato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,997	<0,001
Ambos Géneros	Estearato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	5,359	<0,001

8.1.3.8 Concentraciones de Etil araquidonato

Las concentraciones del Etil araquidonato en plasma aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 13a y 13b). No se encontraron diferencias significativas en la C_{\max} , T_{\max} y AUC para las diferentes dosis en mujeres, mientras que en hombres se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la C_{\max} y AUC. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres no se encontraron diferencias significativas para ninguna de las comparaciones. En hombres las diferencias significativas en la C_{\max} se encontraron en las comparaciones de las dosis de 20g-60g y 60g-80g y así como en las de 40g-60g y 40g-80g. La AUC fue estadísticamente significativa para la comparación 20g-60g y 20g-80g. Cuando se realizó la comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la C_{\max} en la dosis de 60g y para la T_{\max} en la de 40g, (Tabla 26).

En referencia al curso temporal (Tabla 37), para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres a las 0.5, 1,5, 2 y 4 horas post-administración para las dosis de 20g vs 60g y 40g vs 60g. Diferencias en la dosis de 20g vs 60g también fueron halladas a las 1 y 3 horas respectivamente. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 28).

RESULTADOS

Figura 13(a). Concentraciones de Etil araquidonato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

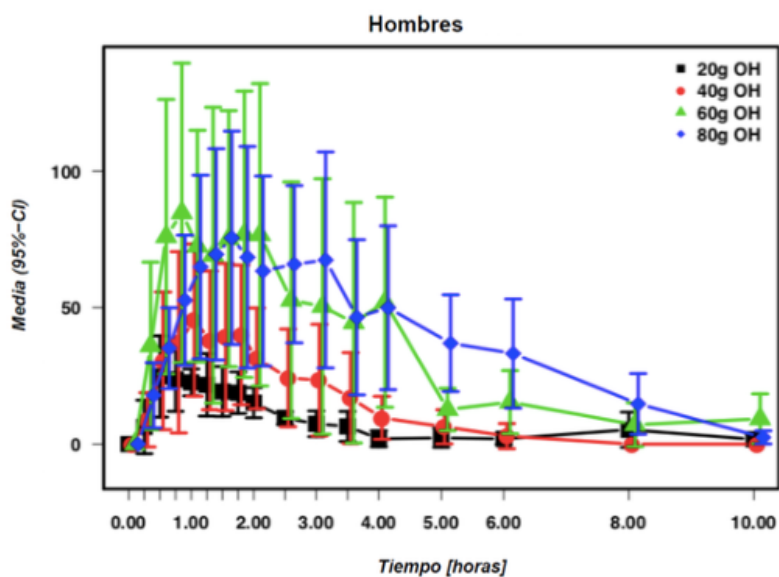
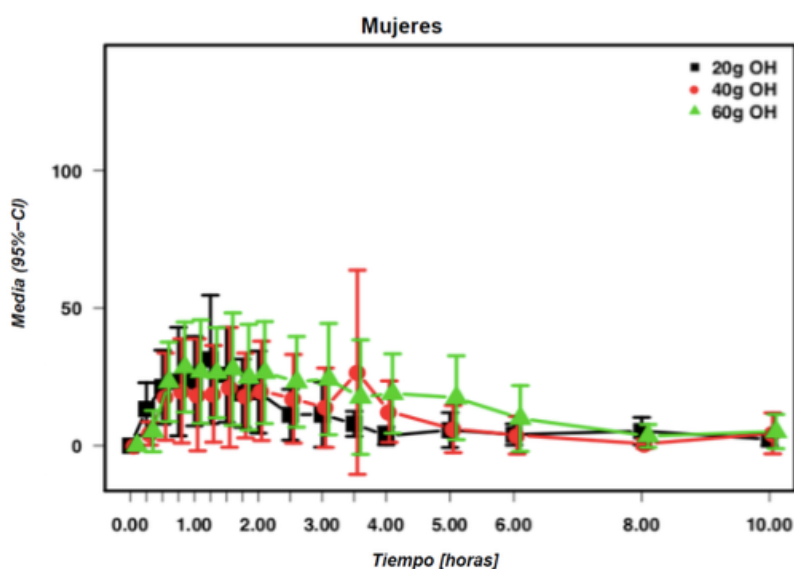


Figura 13(b). Concentraciones de Etil araquidonato de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 26: Concentración Etil araquidonato y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres			
	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	44,1±22,0	1,25	89,1±53,3
40g OH	48,6±36,9	1,38	108,2±80,7
60g OH	42,0±14,9	1,00	165,4±104,0
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,878	0,318	0,216
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,960	0,397	0,905
20g OH-60g OH	0,958	0,908	0,204
40g OH-60g OH	0,866	0,531	0,434
Hombres			
	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	30,4±15,8	1,00	70,7±27,1
40g OH	54,1±32,0	0,75	139,3±97,0
60g OH	98,6±57,7	0,75	323,5±265,7
80g OH	82,5±48,7	1,50	365,9±233,4
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,177	0,013
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,644	1,000	0,863
20g OH-60g OH	0,002	1,000	0,009
20g OH-80g OH	0,210	0,466	0,047
40g OH-60g OH	0,107	0,991	0,120
40g OH-80g OH	0,921	0,327	0,333
60g OH-80g OH	0,034	0,330	0,827
Ambos géneros			
	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,714	0,761	0,978
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,993	0,036	0,970
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,007	0,663	0,092

RESULTADOS

Tabla 27: Etil araquidónico. Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,003	1,000
0,5 Horas: 40g vs 60g	<0,001	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	0,965	1,000
1 Horas: 20g vs 60g	0,004	1,000
1 Horas: 40g vs 60g	0,228	0,995
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,993	1,000
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	1,000
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,026	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,999
2 Horas: 40g vs 60g	<0,001	1,000
3 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
3 Horas: 20g vs 60g	0,028	0,822
3 Horas: 40g vs 60g	0,232	0,963
4 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,927
4 Horas: 20g vs 60g	0,004	0,576
4 Horas: 40g vs 60g	0,004	1,000
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
6 Horas: 20g vs 60g	0,997	1,000
6 Horas: 40g vs 60g	0,982	1,000
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	0,999	1,000

RESULTADOS

Tabla 28: Etil araquidonato Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	Araquidonato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	0,636	0,850
Hombres	Araquidonato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,497	<0,001
Ambos Géneros	Araquidonato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,786	<0,001

8.1.3.9 Concentraciones de suma de Esteres etílicos de ácidos grasos

Las concentraciones de la suma de los Esteres etílicos de ácidos grasos en plasma (FAEEs) aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 14a y 14b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} y AUC para las diferentes dosis en ambos géneros. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas para las comparaciones de las dosis de 20g-40g, 20g-60g. En hombres las diferencias significativas en la C_{max} se encontraron en las comparaciones de las dosis de 20g-60g, 20g-80g y 40g-60g. La AUC fue estadísticamente significativa para todas las comparaciones. Las concentraciones totales de FAEEs aumentaron de forma no proporcional (no lineal) a las dosis de forma clara tanto en los hombres y las mujeres (Tabla 29). Cuando se realizó comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables, (Tabla 29).

En referencia al curso temporal (Tabla 30) para las diferentes dosis de alcohol, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y en mujeres a las 1, 1,5, 2 y 3, horas para las dosis para las dosis de 20g vs 40g y 20g vs 60g. Las diferencias en la dosis de 20g vs 60g continuaron hasta las 4h. Diferenciado por géneros, en mujeres diferencias a las 4h, se encontraron para las dosis de 20g vs 40g y a las 6 horas para las dosis de 20g vs 60g. En hombres diferencias se encontraron a las 0.5 h para las dosis de 20g vs 60g post-administración. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 31).

RESULTADOS

Figura 14(a). Concentraciones de de suma de Esteres etílicos de ácidos grasos de 0 a 10h en función de la dosis administrada en hombres

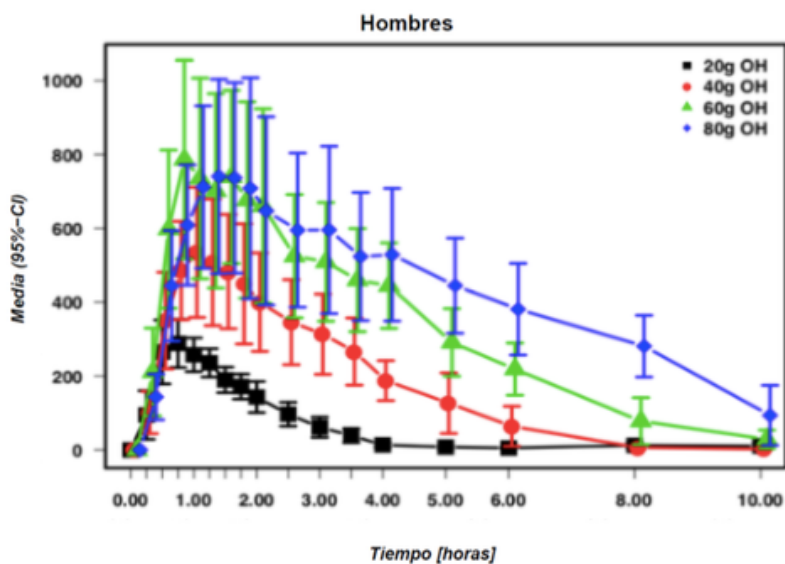
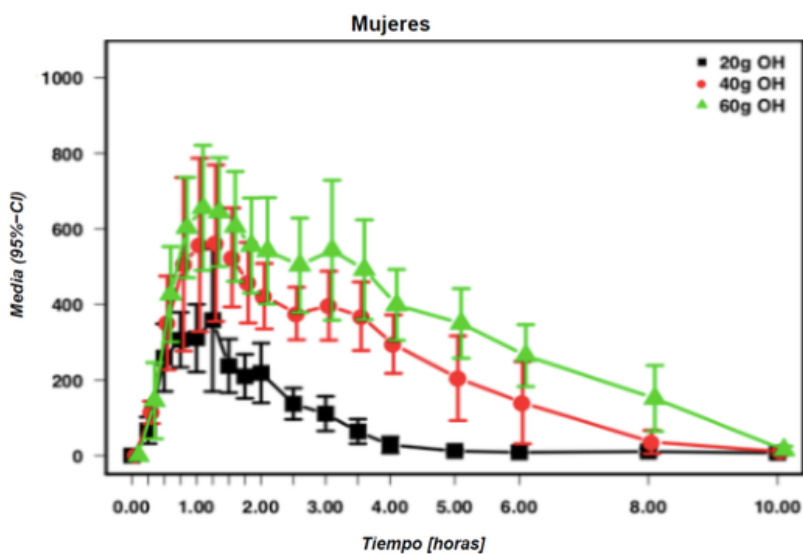


Figura 14(b). Concentraciones de de suma de Esteres etílicos de ácidos grasos de 0 a 10h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 29: Concentración de la suma de Esteres etílicos de acidos grasos (suma valores) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	407±187	1,00	750±184
40g OH	581±236	1,00	2215±720
60g OH	715±187	1,00	3245±796
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,511	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	0,761	<0,001
20g OH-60g OH	0,005	0,687	<0,001
40g OH-60g OH	0,336	0,920	0,003
Hombres	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	304±75	0,75	590±129
40g OH	558±204	0,88	1721±644
60g OH	871±313	0,88	3245±941
80g OH	876±337	1,25	4192±1409
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,105	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,107	0,562	0,015
20g OH-60g OH	<0,001	0,635	<0,001
20g OH-80g OH	<0,001	0,122	<0,001
40g OH-60g OH	0,050	0,814	0,005
40g OH-80g OH	0,158	0,408	<0,001
60g OH-80g OH	0,915	1,000	0,048
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,560	0,197	0,883
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,997	0,076	0,415
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,402	0,972	1,000

RESULTADOS

Tabla 30: Suma de Esteres etílicos de ácidos grasos. Post-hoc Tukey tests
curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,995	0,923
0,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	0,134
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,120	0,930
1 Horas: 20g vs 40g	0,007	<0,001
1 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1 Horas: 40g vs 60g	0,507	0,708
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,003	<0,001
1,5 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,087	0,885
2 Horas: 20g vs 40g	0,019	0,005
2 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
2 Horas: 40g vs 60g	0,073	0,410
3 Horas: 20g vs 40g	0,024	<0,001
3 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
3 Horas: 40g vs 60g	0,558	0,150
4 Horas: 20g vs 40g	0,371	<0,001
4 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
4 Horas: 40g vs 60g	0,084	0,627
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,363
6 Horas: 20g vs 60g	0,227	<0,001
6 Horas: 40g vs 60g	0,934	0,353
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,384
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,469
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 31: Suma de Esteres etílicos de ácidos grasos. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres		
	Total FAEEs	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	5,345	<0,001
Hombres		
	Total FAEEs	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	4,487	<0,001
Ambos Géneros		
	Total FAEEs	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	6,997	<0,001

8.2 Concentraciones en Orina

Para las concentraciones en orina se analizó la C_{max} , T_{max} y el porcentaje μ moles excretados en 72h. En nuestros voluntarios, el EtS y el EtG fue detectable en orina hasta 1,5 días después de la ingesta de cantidades moderadas de alcohol (20-40g). Con las dosis altas fue detectable hasta las 48h. (Figura)

8.2.1 Concentraciones de Etilsulfato en orina

Las concentraciones del etilsulfato en orina aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 15a y 15b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} para las diferentes dosis en mujeres y hombres. Con respecto a el porcentaje de μ moles excretados en 72h para el etilsulfato (Figura 16), se observa que fue inferior a el etilglucurónido en todas las dosis, para los 20g (0,016%) en la de 40g (0,026%), en la de 60 (0,035%) y en la de 80g (0,039 %).

En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} para todas las comparaciones. En hombres las diferencias significativas en la C_{max} se encontraron en todas las comparaciones a excepción de las comparaciones de 20g vs 40g y la de 20g vs 60g. Cuando se realizó la comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla32)

En referencia al curso temporal, (Tabla 33) para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y mujeres a los intervalos de 0h-6h y de 6h-12h post-

RESULTADOS

administración, para las dosis de 20g vs 60g, adicionalmente en las mujeres también fueron significativas las dosis de 40g vs 60g en los mismos intervalos de tiempo. En hombres la diferencia también fue encontrada entre la dosis de 20g vs 40g de 0h-6h. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas. (Tabla 34)

Figura 15(a). Concentraciones de etilsulfato en orina de 0 a 72h en función de la dosis administrada en hombres

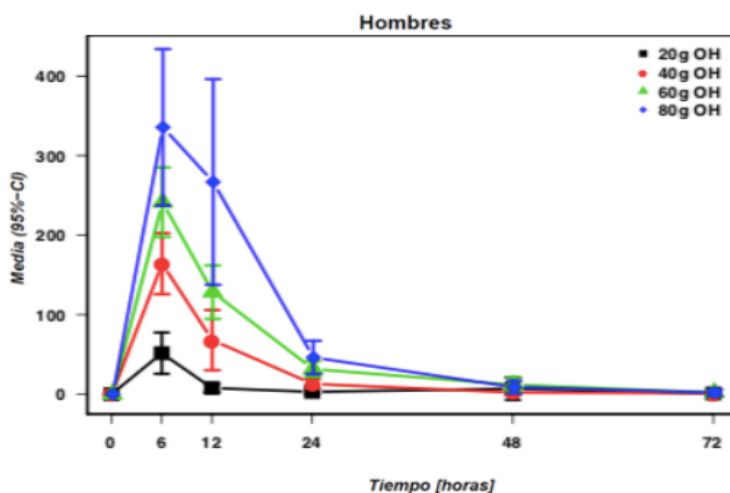
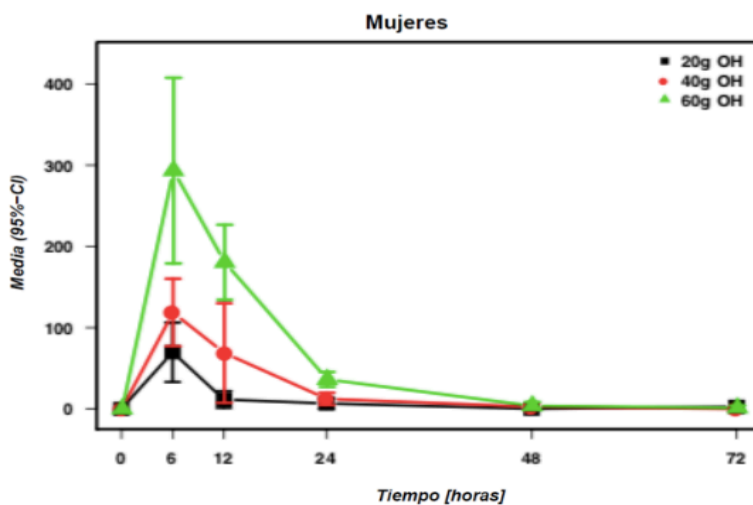
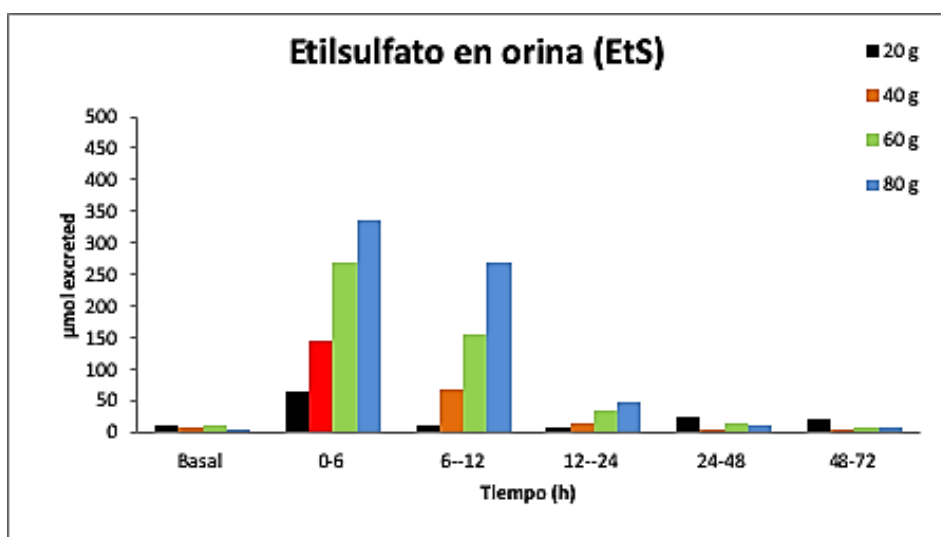


Figura 15(b). Concentraciones de etilsulfato en orina de 0 a 72h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Figura 16. Porcentaje de excreción del EtS de 0 a 72h para toda la muestra (n=53).



RESULTADOS

Tabla 32: Concentración etilsulfato en orina (EtS) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} y T_{max}

Mujeres		
	(C_{max})	(T_{max})
Descriptivo	Media \pm DE	Mediana
20g OH	69,7 \pm 39,6	6,00
40g OH	131,1 \pm 58,7	6,00
60g OH	299,0 \pm 117,3	6,00
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p		
20g-40g-60g OH	<0,001	0,591
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p		
20g OH-40g OH	<0,001	0,749
20g OH-60g OH	<0,001	1,000
40g OH-60g OH	<0,001	1,000
Hombres		
	(C_{max})	(T_{max})
Descriptivo	Media \pm DE	Mediana
20g OH	51,5 \pm 30,9	6,00
40g OH	164,0 \pm 45,9	6,00
60g OH	241,4 \pm 52,2	6,00
80g OH	347,7 \pm 137,2	6,00
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p		
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,392
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p		
20g OH-40g OH	0,010	1,000
20g OH-60g OH	<0,001	1,000
20g OH-80g OH	<0,001	0,629
40g OH-60g OH	0,460	1,000
40g OH-80g OH	<0,001	0,786
60g OH-80g OH	<0,001	0,944
Ambos géneros		
	(C_{max})	(T_{max})
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) p-valor		
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,620	1,000
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,468	0,647
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,209	0,467

RESULTADOS

Tabla 33: Etilsulfato en orina. Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0-6 Horas: 20g vs 40g	<0,001	0,308
0-6 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
0-6 Horas: 40g vs 60g	0,191	<0,001
6-12 Horas: 20g vs 40g	0,141	0,125
6-12 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
6-12 Horas: 40g vs 60g	0,687	<0,001
12-24 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
12-24 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,923
12-24 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,976
24-48 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
24-48 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
24-48 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
48-72 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
48-72 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
48-72 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

Tabla 34: Etilsulfato en orina. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	Etilsulfato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	13,406	<0,001
Hombres	Etilsulfato	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	16,439	<0,001
Ambos Géneros	Etilsulfato	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	24,787	<0,001

8.2.2 Concentraciones de Etilglucurónido en orina

Las concentraciones del etilglucurónido en orina aumentaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 17a y 17b). Se encontraron diferencias significativas en la C_{max} para las diferentes dosis en mujeres y hombres. Con respecto a el porcentaje de μ moles excretados en 72h para el etilglucurónido (Figura 18) fue mayor que, para el etilsulfato en todas las dosis, para los 20g (0,018%) en la de 40g (0,034%), en la de 60 (0,051%) y en la de 80 (0,058 %).

En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres se encontraron diferencias significativas en la C_{max} para todas las comparaciones. En hombres las diferencias significativas en la C_{max} . Cuando se realizó la comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 35)

En referencia al curso temporal, (Tabla 36) para las diferentes dosis de alcohol se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres y mujeres a los intervalos de 0h-6h y de 6h-12h post-administración, para las dosis de 20g vs 60g, adicionalmente en las mujeres también fueron significativas las dosis de 40g vs 60g en los mismos intervalos de tiempo y en el de 20g vs 40g de 6h -12h. En hombres la diferencia entre la dosis de 20g vs 40g fueron halladas de 0h-6h. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas. (Tabla 37)

RESULTADOS

Figura 17(a). Concentraciones de Etilglucurónido en orina de 0 a 72h en función de la dosis administrada en hombres

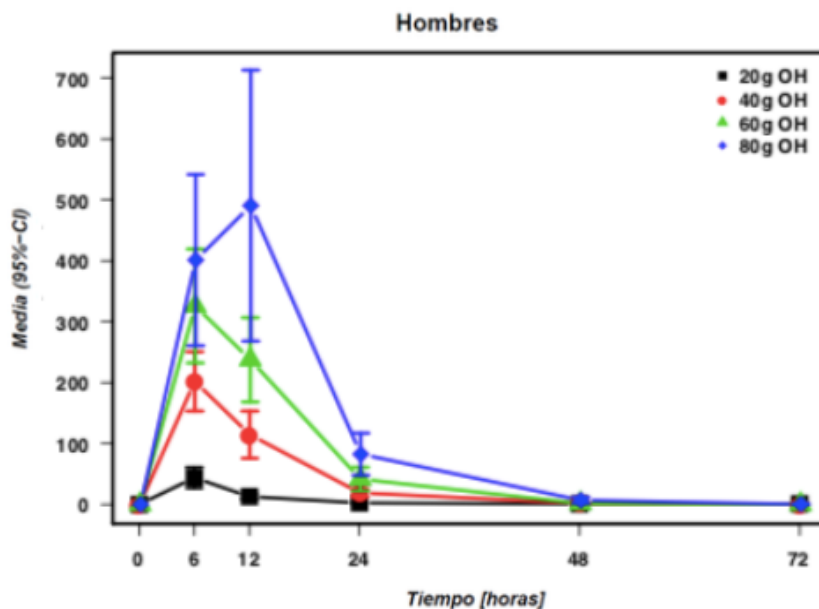
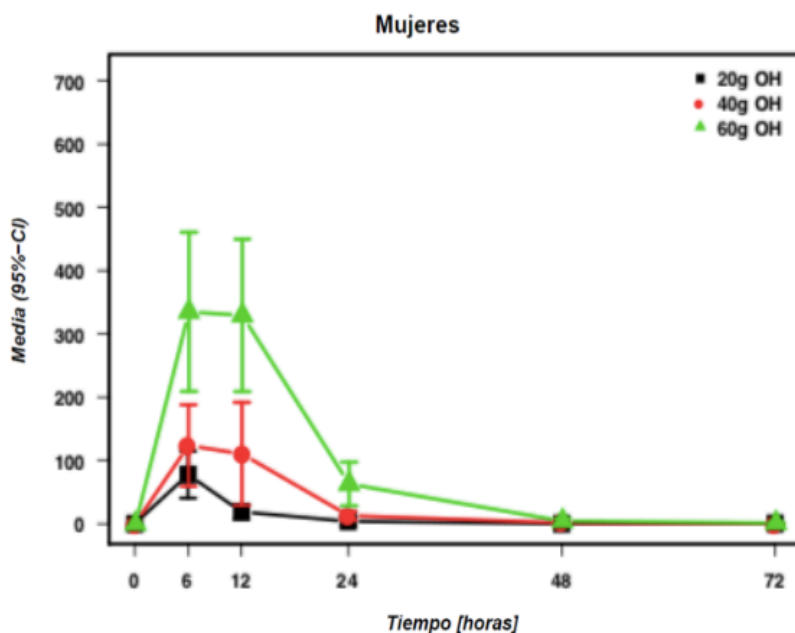
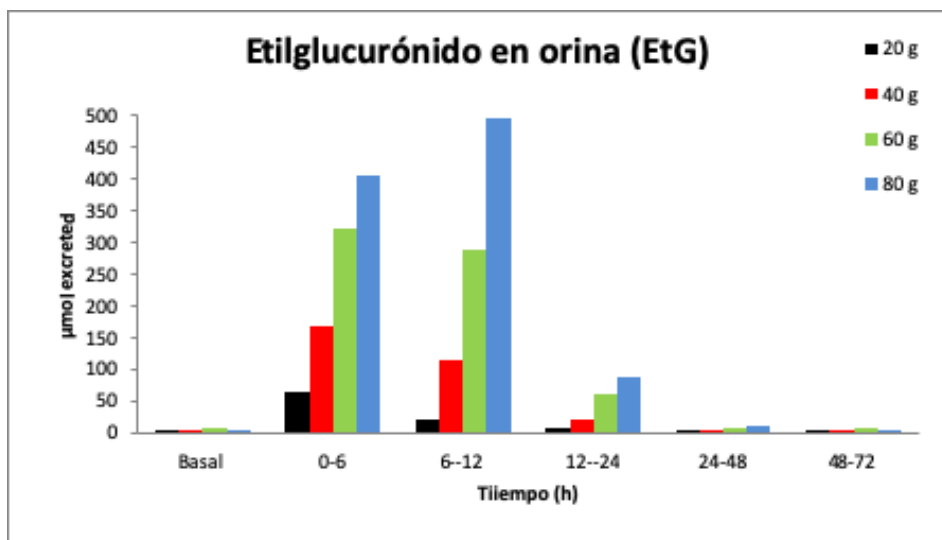


Figura 17(b). Concentraciones de Etilglucurónido en orina de 0 a 72h en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Figura 18. Porcentaje de excreción del EtG de 0 a 72h para toda la muestra (n=53).



RESULTADOS

Tabla 35: Concentraci3n Etilglucur3nido (EtG) en orina valores y an3lisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} y T_{max}

Mujeres	(C_{max})	(T_{max})
Descriptivo	Media±DE	Mediana
20g OH	77,8 ± 40,1	6,00
40g OH	151,9 ± 94,0	6,00
60g OH	379,6 ± 129,2	6,00
Comparaci3n Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p		
20g-40g-60g OH	<0,001	0,128
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p		
20g OH-40g OH	<0,001	0,507
20g OH-60g OH	<0,001	0,139
40g OH-60g OH	<0,001	0,368
Hombres	(C_{max})	(T_{max})
Descriptivo	Media±DE	Mediana
20g OH	43,8 ± 20,3	6,00
40g OH	211,4 ± 43,7	6,00
60g OH	328,2 ± 111,1	6,00
80g OH	500,7 ± 262,9	12,00
Comparaci3n Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p		
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,054
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p		
20g OH-40g OH	0,022	0,547
20g OH-60g OH	<0,001	0,821
20g OH-80g OH	<0,001	0,037
40g OH-60g OH	0,613	1,000
40g OH-80g OH	<0,001	0,402
60g OH-80g OH	0,004	0,503
Ambos géneros	(C_{max})	(T_{max})
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p		
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,283	1,000
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,164	1,000
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,537	0,608

RESULTADOS

Tabla 36: Etilglucurónido en orina. Post-hoc Tukey tests curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0-6 Horas: 20g vs 40g	0,001	0,858
0-6 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
0-6 Horas: 40g vs 60g	0,124	<0,001
6-12 Horas: 20g vs 40g	0,104	0,046
6-12 Horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
6-12 Horas: 40g vs 60g	0,130	<0,001
12-24 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
12-24 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,597
12-24 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,741
24-48 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
24-48 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
24-48 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
48-72 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
48-72 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
48-72 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 37: Etilglucurónido en orina. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres		
	Etilglucurónido	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	14,261	<0,001
Hombres		
	Etilglucurónido	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	15,276	<0,001
Ambos Géneros		
	Etilglucurónido	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	24,932	<0,001

8.3 Variables fisiológicas

8.3.1 Presion Arterial (PA)

8.3.1.1 *Presion Arterial Sistólica (PAS)*

En la PAS tras la administración de las diferentes dosis de alcohol se observó un leve incremento de la PAS en las primeras horas, después un leve decremento y un valor similar al basal al final de la sesión a las 10h. Los efectos se observaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó la dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 19a y 19b). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la E_{max} , T_{max} y AUC a lo largo de la sesión experimental para las diferentes dosis ni en hombres ni en mujeres. Cuando se realizó la comparación entre géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables. (Tabla 38)

En referencia al curso temporal, (Tabla 30) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas comparadas por género para las diferentes condiciones. (Tabla 40)

RESULTADOS

Figura 19(a). Presión arterial sistólica de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto a la basal) administrada en hombres

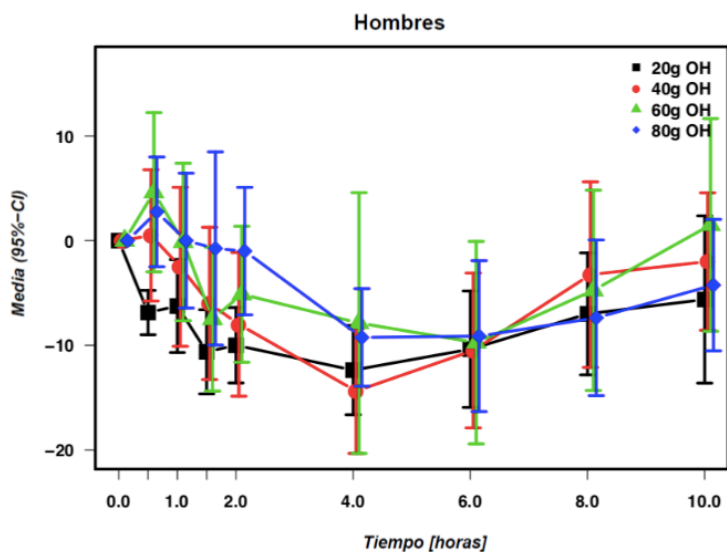
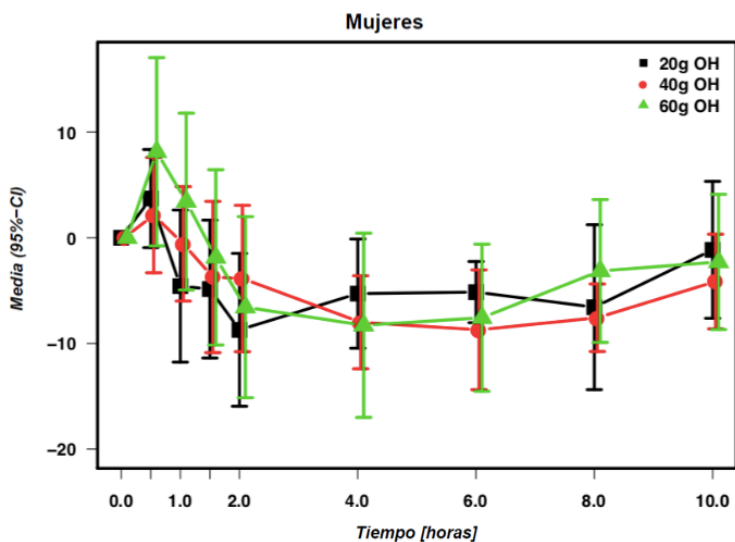


Figura 19(b). Presión arterial sistólica de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto a la basal) administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 38: Efecto en la presión arterial sistólica (PAS) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	-7,14±11,3	2,00	-48,9±44,6
40g OH	-10,29±10,5	4,00	-58,6±34,9
60g OH	-1,57±19,0	1,50	-43,6±68,9
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,539	0,332	0,882
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,970	0,584	0,957
20g OH-60g OH	0,672	0,982	0,958
40g OH-60g OH	0,532	0,405	0,874
Hombres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	-14,75±3,88	3,00	-89,5±46,3
40g OH	-11,12±14,98	4,00	-72,2±69,6
60g OH	-5,25±20,94	4,00	-51,2±95,4
80g OH	-9,38±15,14	5,00	-56,0±49,0
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	0,649	0,577	0,661
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,963	1,000	0,964
20g OH-60g OH	0,587	0,837	0,660
20g OH-80g OH	0,892	1,000	0,757
40g OH-60g OH	0,863	1,000	0,909
40g OH-80g OH	0,996	1,000	0,956
60g OH-80g OH	0,947	1,000	0,998
Ambos géneros	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,753	0,389	0,530
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,995	0,625	0,937
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,948	0,340	0,994

RESULTADOS

Tabla 39: Presión arterial sistólica Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,996	1,000
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,053	0,969
0,5 Horas: 40g vs 60g	0,733	0,863
1 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,881
1 Horas: 20g vs 60g	0,824	0,351
1 Horas: 40g vs 60g	0,966	0,997
1,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
1,5 Horas: 20g vs 60g	0,999	0,999
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,694
2 Horas: 20g vs 60g	0,960	1,000
2 Horas: 40g vs 60g	0,927	1,000
3 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
3 Horas: 20g vs 60g	0,979	1,000
3 Horas: 40g vs 60g	0,257	1,000
4 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,996
4 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
4 Horas: 40g vs 60g	0,999	1,000
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
6 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,997
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,990
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	0,638	1,000
8 Horas: 40g vs 60g	0,846	1,000
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 40: Presión arterial sistólica. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	PAS	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	valor-p
Dosis × Tiempo	1,448	0.141
Hombres	PAS	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	valor-p
Dosis × Tiempo	1,219	0.238
Ambos Géneros	PAS	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	valor-p
Dosis × Tiempo	1,456	0.127

8.3.1.2 *Presion Arterial Diastólica (PAD)*

En la PAD tras la administración de las diferentes dosis de alcohol se observó un leve incremento en la primera hora, después un leve decremento y un valor similar al basal al final de la sesión a las 10h. Los efectos se observaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó a dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 20a y 20b). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el E_{max} , a lo largo de la sesión experimental para las diferentes dosis en hombres y mujeres. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las comparaciones entre dosis. Cuando se realiza comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables. (Tabla 41)

En referencia al curso temporal (Tabla 42), se encontraron diferencias estadísticamente significativas en hombres. En el curso temporal en la comparación por género para las diferentes condiciones, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 43)

RESULTADOS

Figura 20(a). Efectos en la Presión arterial diastólica de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en hombres

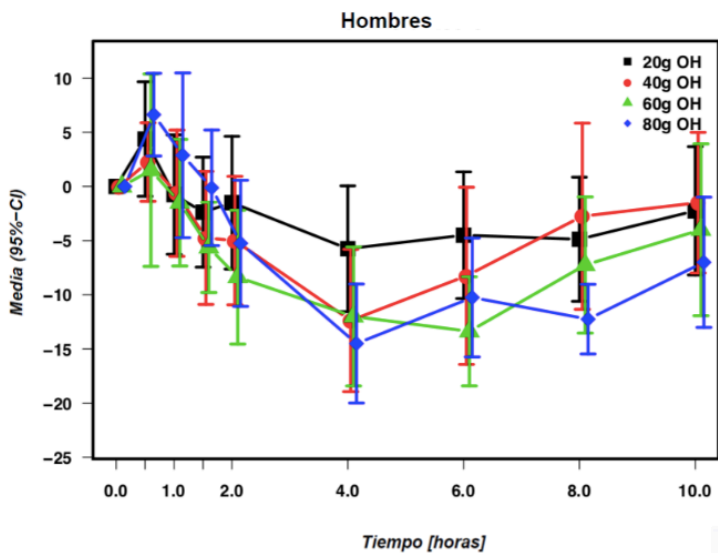
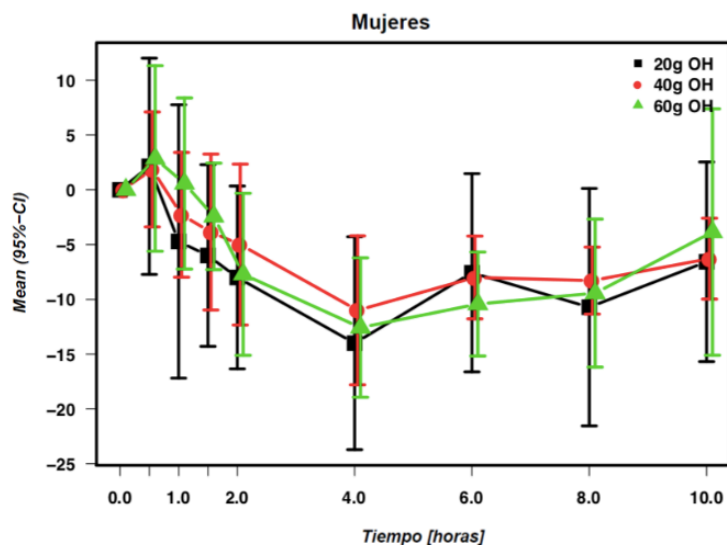


Figura 20(b). Efectos en la Presión arterial diastólica de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 41: Efecto en la Presión arterial diastólica (PAD) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	-7,0±19,3	0,50	-85,4±94,9
40g OH	-11,1±11,1	4,00	-69,2±41,4
60g OH	-8,0±14,5	4,00	-77,9±60,0
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,001	0,356	0,687
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,950	0,434	0,663
20g OH-60g OH	0,955	0,627	0,940
40g OH-60g OH	0,998	0,982	0,895
Hombres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	-3,62±12,1	5,00	-33,8±58,0
40g OH	-9,50±14,5	4,00	-56,1±64,9
60g OH	-7,62±15,6	6,00	-82,5±60,5
80g OH	-10,62±14,0	4,00	-82,9±46,5
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,421	0,111
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,871	1,000	0,260
20g OH-60g OH	0,938	0,865	0,331
20g OH-80g OH	0,961	0,869	0,325
40g OH-60g OH	0,997	1,000	0,797
40g OH-80g OH	0,988	1,000	0,790
60g OH-80g OH	0,999	0,760	1,000
Ambos géneros	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,747	0,328	0,241
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,999	0,461	0,997
60g OH: Hombres vs Mujeres	1,000	0,159	0,999

RESULTADOS

Tabla 42: Presión arterial diastólica. Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,883
0,5 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
0,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,250
1 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,683
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,305
1,5 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,929
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	0,998	0,161
2 Horas: 20g vs 60g	0,817	1,000
2 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,947
3 Horas: 20g vs 40g	0,661	0,161
3 Horas: 20g vs 60g	0,913	0,999
3 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,993
4 Horas: 20g vs 40g	0,996	0,905
4 Horas: 20g vs 60g	0,377	1,000
4 Horas: 40g vs 60g	0,997	0,965
6 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,250
6 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,998
8 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,766
8 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,981
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 43: Presión arterial diastólica. Diferencias de géneros curso temporal

Mujeres	PAD	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	0,614	0,849
Hombres	PAD	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	2,131	0,004
Ambos Géneros	PAD	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,300	0,206

8.3.1.3 Frecuencia cardíaca (FC)

En la FC tras la administración de las diferentes dosis de alcohol se observó una leve disminución hasta las 4-6 horas y después un leve aumento a un valor similar al basal al final de la sesión a las 10h. Los efectos se observaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó a dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 21a y 21b). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la E_{max} , a lo largo de la sesión experimental para las diferentes dosis en hombres. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en hombres se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la E_{max} en las comparaciones entre las dosis de 20g-80g, 40g-80g y 60g-80g. Cuando se realiza comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables (Tabla 44). En referencia al curso temporal (Tabla 45), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas comparadas por género para las diferentes condiciones. (Tabla 46)

RESULTADOS

Figura 21(a). Efectos en la frecuencia cardíaca de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en hombres

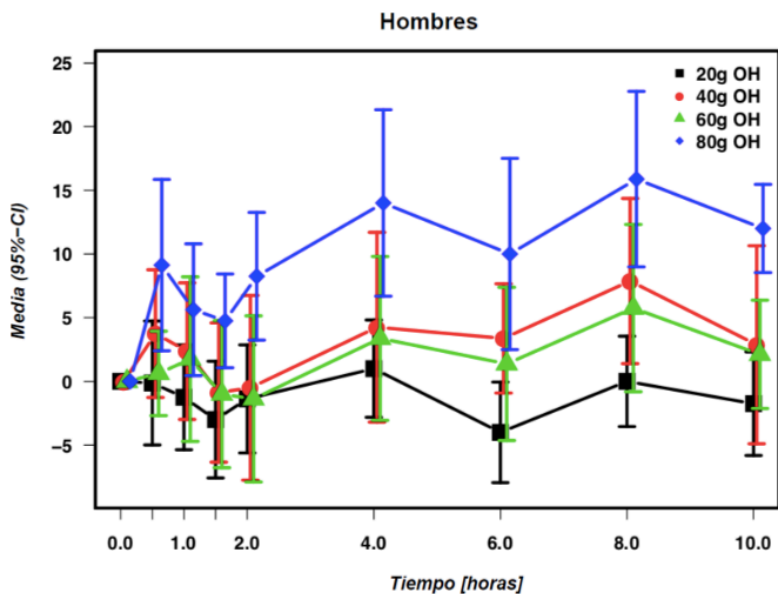
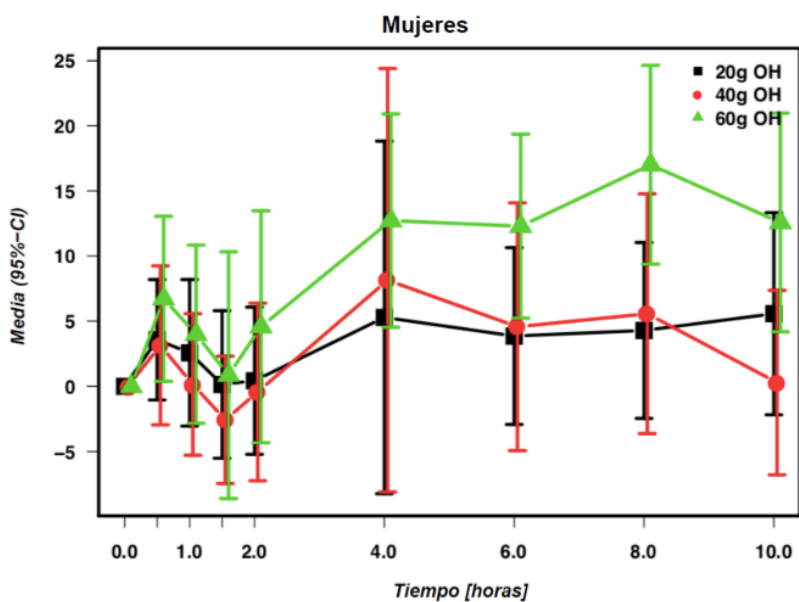


Figura 21(b). Efectos en la frecuencia cardíaca de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en mujeres.



RESULTADOS

Tabla 44: Efectos en la frecuencia cardíaca (FC) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	11,43±10,9	4,00	36,1±69,8
40g OH	7,71±18,8	4,00	36,7±192,0
60g OH	16,29±14,0	8,00	108,1±72,8
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,543	0,126	0,397
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,992	0,802	0,954
20g OH-60g OH	0,606	0,183	0,390
40g OH-60g OH	0,544	0,209	0,556
Hombres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	-2,75±8,40	4,00	64,8±208,9
40g OH	6,62±11,49	4,00	54,8±164,7
60g OH	2,62±13,33	5,00	22,1±59,3
80g OH	20,12±7,59	8,00	111,8±45,8
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,098	0,093
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,277	1,000	0,997
20g OH-60g OH	0,733	1,000	0,933
20g OH-80g OH	<0,001	0,150	1,000
40g OH-60g OH	0,870	0,967	0,262
40g OH-80g OH	0,048	0,229	0,942
60g OH-80g OH	0,005	0,260	0,057
Ambos géneros	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,191	0,752	0,332
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,997	0,902	0,956
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,126	0,194	0,592

RESULTADOS

Tabla 45: Frecuencia cardíaca. Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,982
0,5 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,949
0,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
1 Horas: 20g vs 60g	0,953	0,998
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1,5 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
1,5 Horas: 20g vs 60g	0,996	1,000
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,994
2 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,855
2 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
3 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,435
3 Horas: 20g vs 60g	0,988	0,336
3 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
4 Horas: 20g vs 40g	0,627	0,879
4 Horas: 20g vs 60g	0,490	0,212
4 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,938
6 Horas: 20g vs 40g	0,505	0,780
6 Horas: 20g vs 60g	0,403	0,014
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,396
8 Horas: 20g vs 40g	0,994	1,000
8 Horas: 20g vs 60g	0,836	0,399
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,276
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 46: Frecuencia cardíaca. Diferencias de géneros Curso temporal

Mujeres		
	FC	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,220	0,269
Hombres		
	FC	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,004	0,460
Ambos Géneros		
	FC	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,455	0,127

8.3.1.4 *Temperatura (T°)*

En la temperatura tras la administración de las diferentes dosis de alcohol se observó una leve disminución hasta las 6 horas y después un leve aumento a un valor similar o ligeramente superior al basal al final de la sesión a las 10h. Los efectos se observaron tras la administración de las diferentes dosis de alcohol a medida que se aumentó a dosis administrada en hombres y mujeres (Figura 22a y 22b) Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la E_{max} y en la AUC a lo largo de la sesión experimental para las diferentes dosis en hombres. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en hombres se encontraron diferencias significativas para el E_{max} en las comparaciones entre dosis de 20g-40g, 40g-60g y en la AUC para la comparación de 20g-40g. Cuando se realizó comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables. (Tabla 47)

En referencia al curso temporal, (Tabla 48) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas comparadas por género para las diferentes condiciones. (Tabla 49)

RESULTADOS

Figura 22(a). Efectos en la temperatura de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en hombres

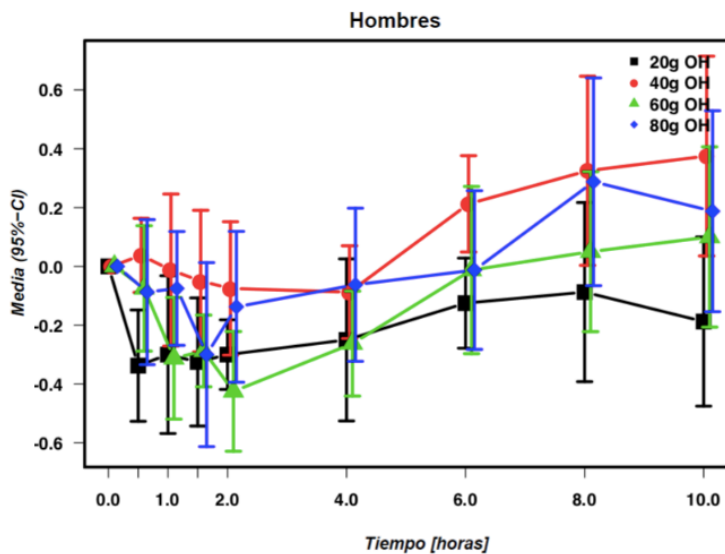
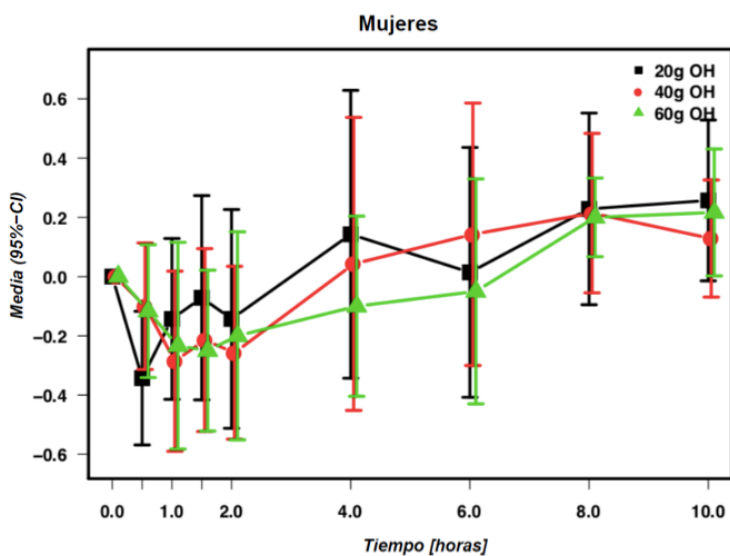


Figura 22(b). Efectos en la temperatura de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 47: Efecto en la temperatura y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	0,0571±0,611	4,00	0,571±3,57
40g OH	0,5286±0,390	4,00	1264±3,67
60g OH	-0,0429±0,500	1,00	-0,354±1,69
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,081	0,643	0,621
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g OH-40g OH	0,196	1,000	0,909
20g OH-60g OH	0,914	0,663	0,843
40g OH-60g OH	0,091	1,000	0,595
Hombres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	-0,350±0,444	1,25	-1969±2,40
40g OH	0,537±0,334	7,00	1169±1,89
60g OH	-0,250±0,515	2,00	-1219±2,01
80g OH	0,150±0,665	8,00	0,209±2,75
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,105	0,029
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,002	0,314	0,032
20g OH-60g OH	0,979	1,000	0,903
20g OH-80g OH	0,194	0,344	0,227
40g OH-60g OH	0,010	0,344	0,169
40g OH-80g OH	0,415	0,968	0,835
60g OH-80g OH	0,386	0,423	0,599
Ambos géneros	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,244	0,582	0,173
40g OH: Hombres vs Mujeres	1,000	0,213	1,000
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,780	0,390	0,892

RESULTADOS

Tabla 48: Temperatura. Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 20g vs 40g	0,664	1,000
0,5 Horas: 20g vs 60g	0,427	1,000
0,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1 Horas: 20g vs 40g	0,974	0,027
1 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,950
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,996
1,5 Horas: 20g vs 40g	0,987	0,027
1,5 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,707
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
2 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,050
2 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,984
2 Horas: 40g vs 60g	0,983	0,994
3 Horas: 20g vs 40g	1,000	0,068
3 Horas: 20g vs 60g	1,000	0,456
3 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
4 Horas: 20g vs 40g	0,847	0,955
4 Horas: 20g vs 60g	0,992	0,979
4 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
6 Horas: 20g vs 40g	0,456	0,300
6 Horas: 20g vs 60g	0,969	0,996
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
8 Horas: 20g vs 40g	0,033	0,037
8 Horas: 20g vs 60g	0,305	0,992
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,979
10 Horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 Horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 49: Temperatura. Diferencias de géneros Curso temporal

Mujeres		
	T°	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	0,989	0,469
Hombres		
	T°	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,077	0,376
Ambos Géneros		
	T°	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,381	0,161

8.3.2 Variables subjetivas y emocionales

Debido a la realización de una enmienda tardía que afectó al protocolo, las variables subjetivas los efectos de los efectos BAES al igual que las EAV predicción y a las 24 horas no pudieron ser medidas en hombres para las dosis de 20g, por lo que a continuación se presentan los resultados para hombres a partir de las dosis de 40g de alcohol, por tal motivo las comparaciones entre géneros solo se pudieron realizar para las dosis de 40g y 60g de Oh. Esta enmienda no afectó a los datos de las mujeres, por lo que la presentación de los resultados permanece sin cambios. La enmienda incorporó la posibilidad de medir la EAV “Borrachera” en diferentes momentos durante el estudio, La primera Evaluación, se realizó antes de la administración del alcohol (E_{\max} Predicción) en el que los sujetos indicaban la sensación de borrachera que les podría producir las diferentes dosis de alcohol administradas durante el estudio, El segundo momento era el obtenido durante la sesión experimental, bajo los efectos máximos de la embriaguez durante la sesión experimental (E_{\max} Real) y finalmente a las 24 horas post-administración que era el efecto máximo de embriaguez recordado en la sesión experimental (E_{\max} Recordatorio). Los valores de los efectos subjetivos se transformaron en una diferencia de medias con respecto a la basal fueron analizadas por ANOVA con las tres condiciones de administración diferentes como factor. (20-40-60g de OH). Para la interpretación de los resultados se utilizó el gráfico de Bland-Altman.

8.3.2.1 Escala Analógica Visual (EAV “embriagado” (borracho))

En la EAV de la sensación de embriagado (borracho) experimentada durante la sesión experimental, se observa un incremento de la embriaguez a medida que la dosis de alcohol aumenta en hombres y mujeres (Figura 23a y 23b). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el E_{\max} y AUC, para las diferentes dosis en ambos géneros. En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres el E_{\max} y en AUC se encontraron diferencias estadísticamente significativas para todas las comparaciones, a excepción de la comparación de 20-40g. En hombres en el E_{\max} y en la AUC, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para todas las comparaciones, excepto la comparación de 40 g (40g - 60g, 40-80g) y en la de 60-80g. Cuando se realizó comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el E_{\max} en las dosis de 40g, y con respecto al AUC se encontraron diferencias para las dosis de 20 y 40g de alcohol (Tabla 50).

En referencia al curso temporal (Tabla 51), para las diferentes dosis de alcohol, se encontraron diferencias significativas en hombres y en mujeres a la 1 y 1,5 hora para las dosis de 20g vs 60g, en mujeres adicionalmente se encontraron diferencias a las 2 y 4 horas para las mismas dosis y en la dosis de 40g vs 60g a las 2 horas post-administración. En hombres se encontraron diferencias entre dosis de 20g vs 40g a las 0,5, 1, 1,5 y 2 horas. Las diferencias entre ambos géneros fueron estadísticamente significativas (Tabla 52). Se observó una correlación lineal positiva en la EAV borrachera (Figura 24) de la E_{\max} real Vs E_{\max} predicción $r = 0,586$ (0,372 - 0,737), para la E_{\max} 24h vs E_{\max} predicción $r = 0,534$ (0,262 - 0,717) y finalmente para la E_{\max} 24h vs E_{\max} real $r = 0,837$ (0,718 - 0,908) siendo esta última la que mejor

RESULTADOS

correlacionaba entre la sensación de borrachera recordada a las 24h post- administración con el máximo efecto presentado durante la sesión E_{\max} Real.

Se realizó la comparación de 2 dosis (40g y 60g de OH) en ambos géneros para los diferentes momentos de la EAV (Figura 25) encontramos una diferencia estadísticamente significativa (prueba de Wilcoxon: $Z = 2,71$; $p = 0,004$) en caso de embriaguez real con una dosis de etanol de 40 g. En este caso, los valores del EAV entre los hombres (mediana = 61; media = 62,6; DE = 14,8) superaron claramente (en promedio) los valores entre las mujeres (mediana = 30; media = 35,1; DE = 14,8). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el género para el resto de las dosis y períodos.

RESULTADOS

Figura 23(a). Sensación de embriagado (borracho) de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en hombres

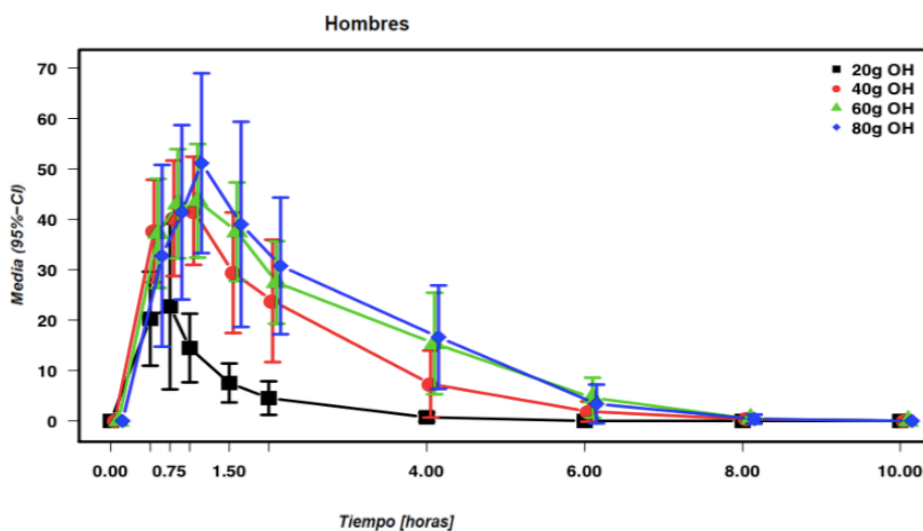
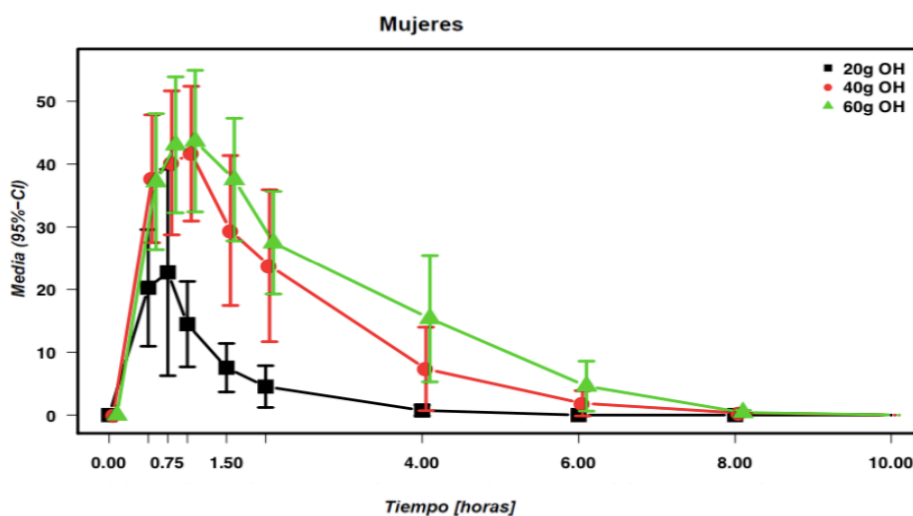


Figura 23(b). Sensación de embriagado (borracho) de 0 a 10h en función de la dosis (diferencias respecto al valor basal) administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 50: Efecto sensación de embriagado (borracho) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	29,2±19,9	0,50	35,0±30,1
40g OH	33,5±12,7	1,00	55,8±23,5
60g OH	59,0±15,7	1,00	150,17±59,7
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	<0,006	0,142	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,877	0,326	0,617
20g OH-60g OH	0,008	0,062	<0,001
40g OH-60g OH	0,023	0,381	<0,001
Hombres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	18,3±14,2	0,50	19,1±18,1
40g OH	63,3±15,4	1,00	136,5±71,3
60g OH	47,0±19,2	0,87	98,9±50,4
80g OH	52,6±21,0	1,00	132,9±73,4
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	<0,001	0,162	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	<0,001	1,000	<0,001
20g OH-60g OH	0,014	1,000	0,046
20g OH-80g OH	0,003	0,438	0,002
40g OH-60g OH	0,291	0,712	0,568
40g OH-80g OH	0,623	1,000	0,999
60g OH-80g OH	0,933	1,000	0,645
Ambos géneros	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH: Hombres vs Mujeres	0,240	0,894	0,044
40g OH: Hombres vs Mujeres	<0,001	0,226	0,013
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,222	0,720	0,094

RESULTADOS

Tabla 51: Sensación de embriagado (borracho). Post-hoc Tukey tests
Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 horas: 20g vs 40g	0,021	0,999
0,5 horas: 20g vs 60g	0,146	0,178
0,5 horas: 40g vs 60g	1,000	0,845
1 horas: 20g vs 40g	<0,001	1,000
1 horas: 20g vs 60g	<0,001	0,003
1 horas: 40g vs 60g	1,000	0,029
1,5 horas: 20g vs 40g	<0,001	0,202
1,5 horas: 20g vs 60g	<0,001	<0,001
1,5 horas: 40g vs 60g	1,000	0,296
2 horas: 20g vs 40g	<0,001	0,996
2 horas: 20g vs 60g	0,154	<0,001
2 horas: 40g vs 60g	0,978	0,004
4 horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
4 horas: 20g vs 60g	0,931	0,045
4 horas: 40g vs 60g	1,000	0,221
6 horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
6 horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
6 horas: 40g vs 60g	0,996	1,000
8 horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
8 horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
8 horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
10 horas: 20g vs 40g	1,000	1,000
10 horas: 20g vs 60g	1,000	1,000
10 horas: 40g vs 60g	1,000	1,000

RESULTADOS

Tabla 52: Sensación de embriagado (borracho). Diferencias de géneros
Curso temporal

Mujeres	Borrachera	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	3,131	<0,001
Hombres	Borrachera	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	4,141	<0,001
Ambos Géneros	Borrachera	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	4,121	<0,001

RESULTADOS

Figura 24. Correlaciones EAV embriagado (borracho) en diferentes momentos administrados en hombres y mujeres

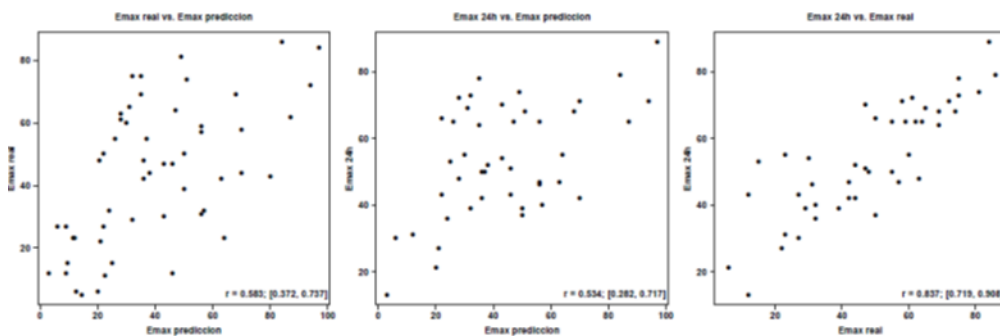
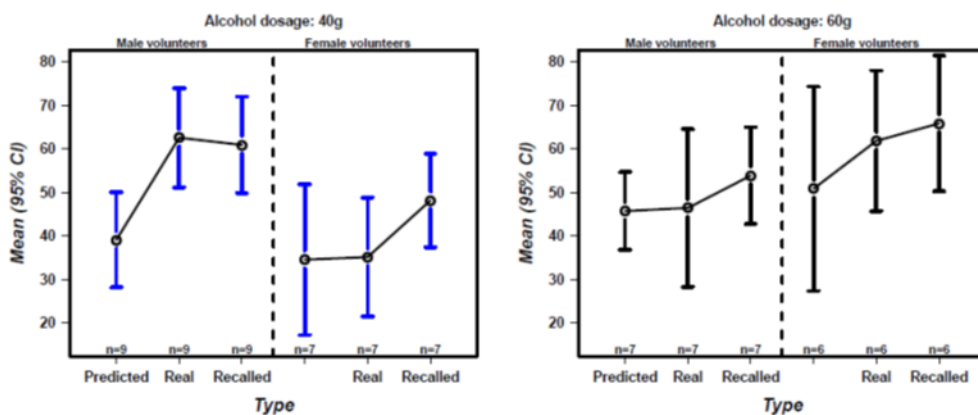


Figura 25. Sensación de embriagado (borracho). Dosis de 40g y 60g de alcohol diferenciadas por géneros



8.3.2.2 *Metodo Bland- Altman*

Para cuantificar el grado de concordancia entre el E_{\max} predicción, el E_{\max} real y el E_{\max} recordatorio, (valor 24 horas después de la ingesta de alcohol,) se utiliza el gráfico Bland-Altman. Además, se calculan los límites inferior y superior del acuerdo. Todos los análisis se realizan para toda la muestra, así como por separado entre voluntarios de ambos géneros.

El método de **Bland-Altman** es un método gráfico que permite comparar dos técnicas de medición sobre una misma variable cuantitativa. Para ello, se cuantifica la diferencia media entre ambos métodos y un rango de confianza, entre los cuales se espera que se incluyan el 95% de las diferencias entre una técnica de medida y la otra. Además, se pueden calcular los intervalos de confianza tanto de la diferencia media entre ambas técnicas como de los límites de concordancia. El gráfico podría ser útil en este caso para determinar si la variabilidad o precisión del método en cuestión se relaciona con el tamaño de la característica que se está midiendo.

En esta representación, el eje Y corresponde a las diferencias entre los valores apareados de los diferentes momentos de la embriaguez-borrachera (E_{\max}), mientras que el eje X representa valor de la media de ambos, como mejor estimador del valor real de la variable.

La representación de los “límits of agreement” o límites de concordancia permiten juzgar visualmente la concordancia entre ambos métodos. Estos límites establecen el rango en el que se encontrarán aproximadamente un 95% de las veces, las diferencias en los datos de una técnica y de la otra. Cuanto menor sea el rango entre los límites, mejor será el “agreement”. Un rango alto entre ambos límites de concordancia implicaría una baja precisión de uno o ambos métodos. Si estos límites no exceden la diferencia máxima aceptable entre métodos,

RESULTADOS

se considera que los dos están en concordancia y pueden ser usados indistintamente. Es importante tener en cuenta que un cambio en la escala de medida no afecta la correlación entre los datos, pero sí afecta la concordancia. Con respecto a los datos, es importante observar si la variabilidad es consistente a lo largo del rango de valores y en torno a la línea de la diferencia media, o si por el contrario se detectan anomalías, como, por ejemplo: los datos en torno a la línea de “bias” sesgo siguen una cierta tendencia conforme el valor de la media entre ambas técnicas aumenta (sesgo proporcional); todos o la mayoría de los datos se encuentran por encima o por debajo de esta línea.

Se grafican tres líneas paralelas como métodos de referencia que se representan:

“Límites de concordancia superior”: diferencia media + $1,96 \cdot SD$.

Diferencia media: valor medio determinado por A – valor medio determinado por B. Refleja el error sistemático, en contraposición con la precisión (SD y CI) que refleja el error aleatorio.

“Límite de concordancia inferior”: diferencia media - $1,96 \cdot SD$.

Si el método A y B obtienen de media valores similares, entonces la diferencia media se situará en cero o próxima a cero. Si se encontrara lejos de este valor, significaría que los dos métodos producen resultados diferentes (el nuevo sub- o sobreestima el valor del método validado).

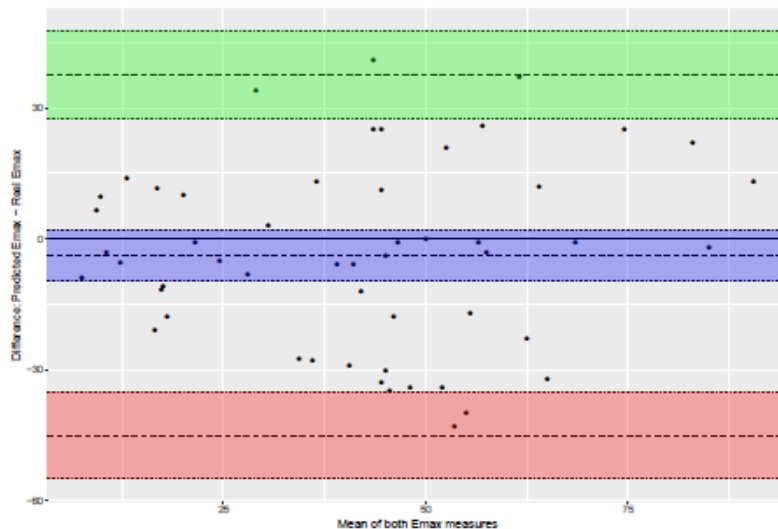
Para determinar si ambos métodos pueden usarse indistintamente, han de establecerse a priori los límites de las diferencias máximas aceptables en base a criterios biológicos/analíticos.

8.3.2.2.1 Interpretación análisis Bland Altman

Los participantes mostraron un E_{\max} real más bajo (efecto máximo posible) en comparación con el efecto predicho (diferencia de medias: -3,6; IC del 95%: [-9,5; 2,2]). Según los datos, la probabilidad de que la diferencia entre el E_{\max} predicción y el E_{\max} real se encuentre entre -45,0 y 37,7 es de 0,95. Al comparar el E_{\max} predicción con el E_{\max} recordado después de 24 horas, el predicho fue mayor al recordado (diferencia de medias: -9,9; [-15,8, -4,0]). La probabilidad de que la diferencia se encuentre entre -47,9 y 28,0 es de 0,95. Finalmente, la comparación entre el E_{\max} real y el E_{\max} recordado después de 24 horas muestra que el E_{\max} real fue mayor al recordado (diferencia de medias: -5,6; [-9,1, -2,1]). La probabilidad de que la diferencia se encuentre entre -28,2 y 17,0 es de 0,95.

Cuando comparamos los resultados por género, encontramos una diferencia estadísticamente significativa (prueba de Wilcoxon: $Z = 2,71$; $p = 0,004$) en caso de embriaguez real con una dosis de etanol de 40 g. En este caso, la media de los valores del SVA entre los hombres (mediana = 61; media = 62,6; DE = 14,8) superó claramente (en promedio) los valores de entre las mujeres (mediana = 30; media = 35,1; DE = 14,8). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el género para el resto de las dosis y períodos.

Figura 26. E_{\max} “predicción vs E_{\max} Real”



Interpretación (Figura 26): Los valores positivos indican que el E_{\max} predicho es algo mayor que el real. No obstante, el intervalo de confianza correspondiente incluye el valor 0, es decir, no se puede concluir que, en general, el E_{\max} predicho promedio es mayor que el real. La probabilidad de que la diferencia entre el E_{\max} predicción y el real se encuentre entre -44,99 y 37,71 es de 0,95.

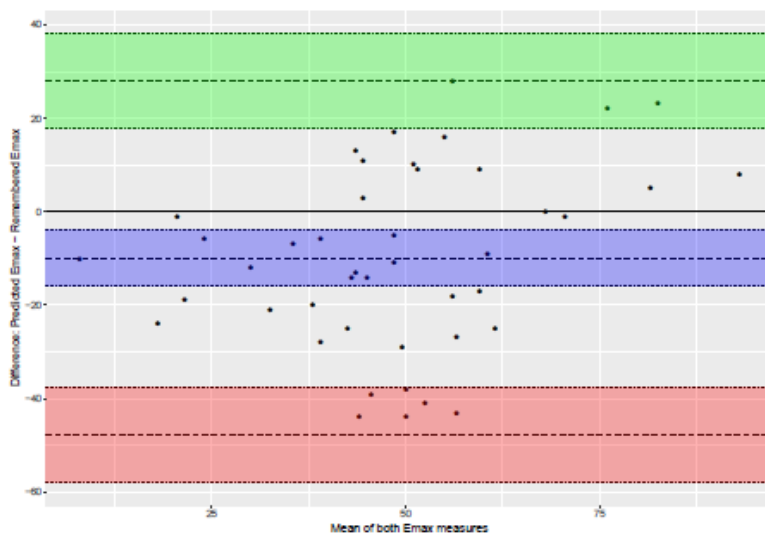
Diferencia media: -3,64; 95%-CI: [-9,45, 2,18].

Límites de concordancia

Límite inferior: -44,99; IC 95%: [-54,99, -34,99]

Límite superior: 37,71; IC 95%: [27,71; 47,71].

Figura 27. E_{\max} “Predicción” vs E_{\max} “Recordatorio”



Interpretación (Figura 27): Los valores positivos indican que el E_{\max} predicho es mayor que el E_{\max} recordado después de 24 horas. Además, el intervalo de confianza correspondiente no incluye el valor 0, es decir, se puede concluir que, en general, el E_{\max} predicción promedio es mayor que el E_{\max} recordado después de 24 horas. La probabilidad de que la diferencia entre el E_{\max} predicho y el recordado se encuentre entre -47,94 y 28,07 es de 0,95.

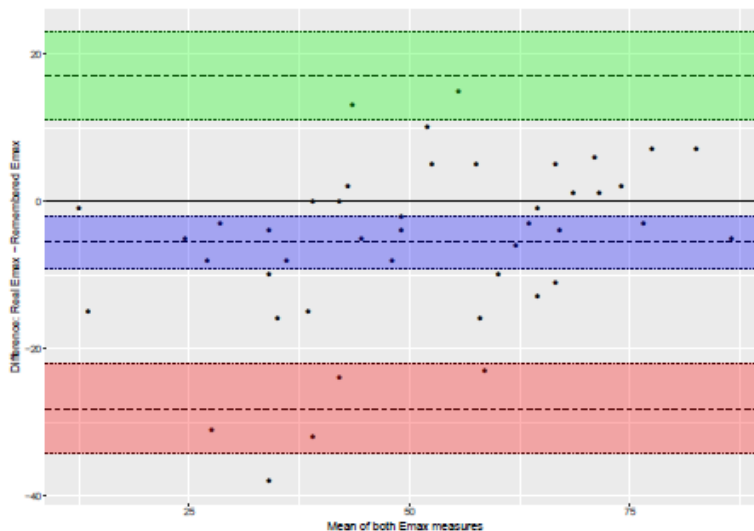
Diferencia media: -9,93; 95%-CI: [-15,83, -4,04].

Límites de concordancia

Límite inferior: -47,94; IC 95%: [-58,09, -37,79].

Límite superior: 28,07; IC del 95%: [17,92; 38,23].

Figura 28. E_{\max} “Real” vs E_{\max} “Recordatorio”



Interpretación (Figura 28): Los valores positivos indican que el E_{\max} real es mayor que el E_{\max} recordado después de 24 horas. Además, el intervalo de confianza correspondiente no incluye el valor 0, es decir, se puede concluir que, en general, el E_{\max} real promedio es mayor que el E_{\max} recordado después de 24 horas. La probabilidad de que la diferencia entre el E_{\max} real y el E_{\max} recordado se encuentre entre -28.17 y 17.04 es 0.95.

Diferencia media: -5,57; 95%-CI: [-9,07, -2,06].

Límites de concordancia

Límite inferior: -28,17; IC 95%: [-34,21, -22,13].

Límite superior: 17,04; IC 95%: [11, 23,07].

8.3.2.3 BAES” Efectos estimulantes”

Para el análisis de los efectos estimulantes, según las instrucciones del cuestionario. Se tomaron 7 de los 14 ítems correspondientes (euforia, lleno de energía, excitación, estimulación, hablador, animado, vigoroso).

Se realizó un promedio de las puntuaciones medias de los ítems correspondientes para todos los voluntarios en las diferentes dosis. En los BAES de efectos estimulantes experimentados durante la sesión experimental, se observó un incremento de los mismos coincidiendo con las primeras horas de la sesión experimental y que aumentó con la dosis de alcohol administrada en hombres y mujeres (Figura 29a y 29b).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el E_{max} , T_{max} y AUC, a lo largo de la sesión experimental para las diferentes dosis en hombres y en mujeres. En las mujeres las diferencias se encontraron en el E_{max} y en la AUC, mientras que para los hombres las diferencias se encontraron en el E_{max} y T_{max} . En el análisis estadístico comparativo de las diferentes condiciones en mujeres en la AUC se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la comparación entre dosis de 20g-40g. En hombres se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las comparaciones entre dosis de 40g-80g en el E_{max} y en la T_{max} . Cuando se realiza comparación entre ambos géneros no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables (Tabla 53). En referencia al curso temporal, (Tabla 54) se encontraron diferencias estadísticamente significativas en mujeres. En el curso temporal en la comparación por género para las diferentes condiciones, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 55).

Figura 29(a). Efectos estimulantes (BAES) de 0 a 10h en función de la dosis administrada (diferencias respecto al valor basal) administrada en hombres

RESULTADOS

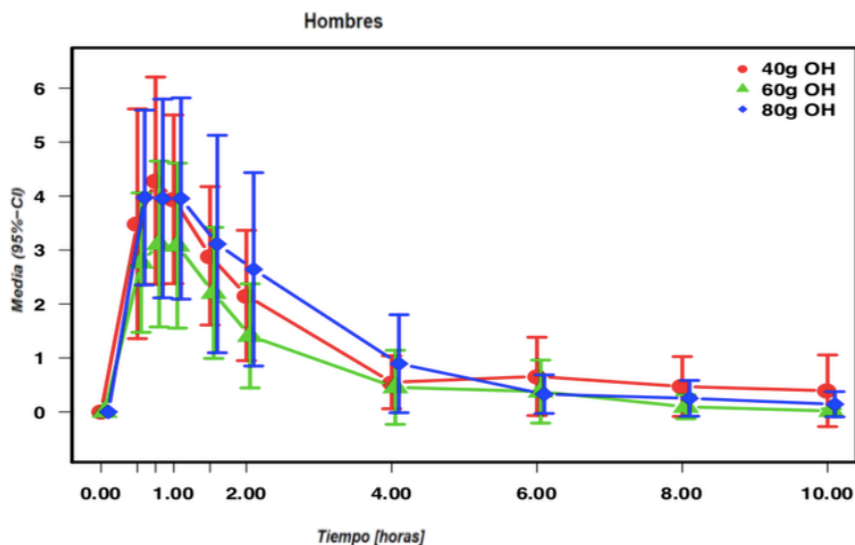


Figura 29(b). Efectos estimulantes (BAES) de 0 a 10h en función de la dosis administrada (diferencias respecto al valor basal) administrada en mujeres

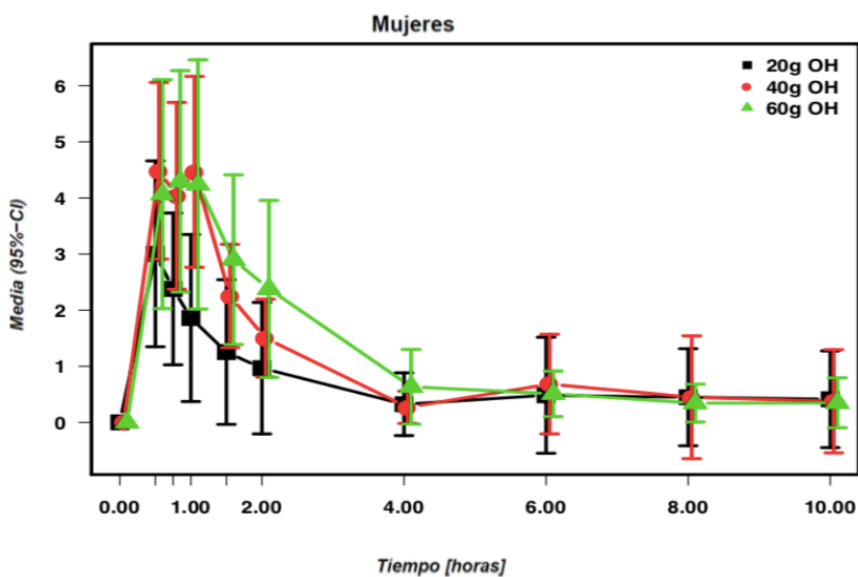


Tabla 53: Suma efectos estimulantes (BAES) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

RESULTADOS

Mujeres	(Emax)	Tmax	AUC
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	6,82±3,40	3,81	8,55±13,56
40g OH	9,13±1,08	3,97	11,92±7,46
60g OH	9,77±2,61	5,94	14,65±9,45
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,040	0,187	<0,001
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,084	0,698	<0,001
20g OH-60g OH	0,076	0,243	0,421
40g OH-60g OH	0,951	0,349	0,985
Hombres	(Emax)	Tmax	AUC
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
40g OH	7,27±2,10	2,54	17±2803
60g OH	7,60±2,71	4,16	1±6570
80g OH	9,71±3,24	5,75	17±1196
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	0,006	0,026	0,724
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
40g OH-60g OH	0,322	0,336	0,831
40g OH-80g OH	0,008	0,020	0,988
60g OH-80g OH	0,148	0,185	0,722
Ambos géneros	(Emax)	Tmax	AUC
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,205	0,052	0,901
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,117	0,244	0,454

RESULTADOS

Tabla 54: Efectos estimulantes (BAES). Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,999
0,75 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
2 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,999
4 Horas: 40g vs 60g	0,794	1,000
6 Horas: 40g vs 60g	0,941	1,000
8 Horas: 40g vs 60g	0,976	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	0,976	1,000

Tabla 55: Efectos estimulantes (BAES). Diferencias de géneros Curso temporal

Mujeres	Activación	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	2,492	0,002
Hombres	Activación	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	0,540	0,922
Ambos Géneros	Activación	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,645	0,031

8.3.2.4 BAES “Efectos Sedantes”

Para el análisis de los efectos sedantes, según las instrucciones del cuestionario. Se tomaron 7 de los 14 ítems correspondientes (dificultad para concentrarse, desanimado, siento la cabeza pesada, inactivo, sedado, pensamiento lento, me siento lento [físico]). Se realizó un promedio de las puntuaciones medias de los ítems correspondientes para todos los voluntarios en las diferentes dosis. Se describen a continuación los diferentes ítems de los efectos sedantes. En los BAES de efectos sedantes experimentados durante la sesión experimental, se observa un incremento de los mismos coincidiendo con las horas posteriores a los efectos estimulantes de la sesión experimental y que aumentaron con el incremento de la dosis de alcohol administrada en hombres y mujeres (Figura 30a y 30b).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el E_{max} , T_{max} y AUC, para ambos géneros en las diferentes dosis de alcohol. Cuando se realiza comparación entre ambos géneros se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el E_{max} en la dosis de 60g (Tabla 56). En referencia al curso temporal (Tabla 57), se encontraron diferencias estadísticamente significativas en mujeres. En el curso temporal en la comparación por género para las diferentes condiciones también se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 58).

RESULTADOS

Figura (30a). Efectos sedantes (BAES) de 0 a 10h (diferencias respecto al valor basal) en función de la dosis administrada en hombres

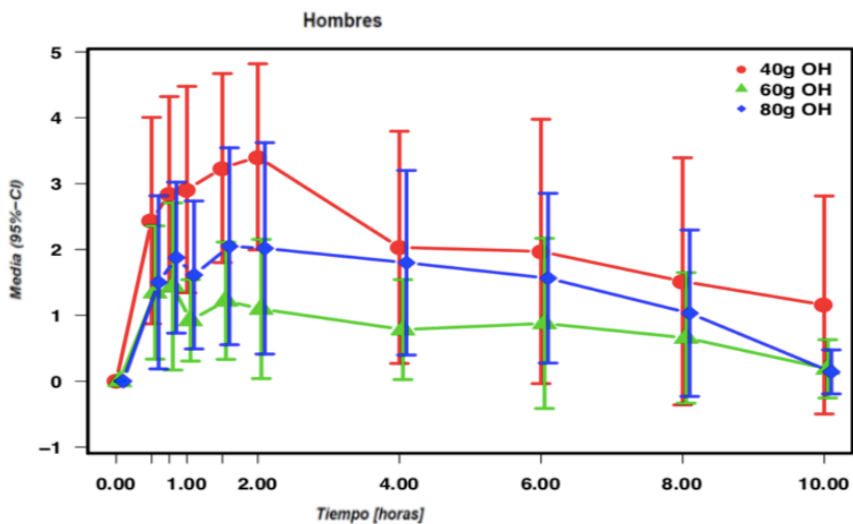
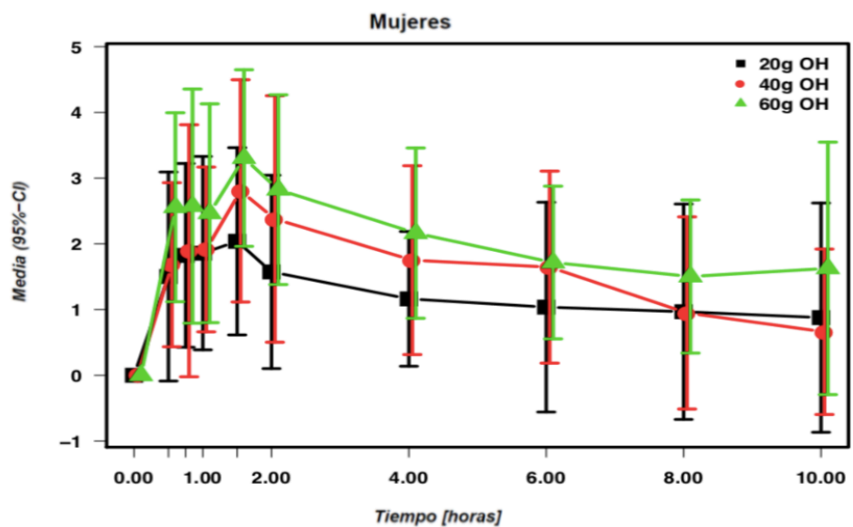


Figura (30b). Efectos sedantes (BAES) de 0 a 10h (diferencias respecto al valor basal) en función de la dosis administrada en mujeres



RESULTADOS

Tabla 56: Efectos sedantes (BAES) y análisis estadístico (ANOVA/Kruskal Wallis y test de Tukey/Wilcoxon) para C_{max} , T_{max} y AUC

Mujeres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
20g OH	3,43±2,33	1,14	15,3±15,2
40g OH	4,94±1,61	1,43	18,5±16,4
60g OH	5,59±2,22	2,04	24,1±13,5
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g OH	0,136	0,746	0,513
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
20g OH-40g OH	0,362	1,000	0,852
20g OH-60g OH	0,126	1,000	0,479
40g OH-60g OH	0,827	0,863	0,777
Hombres	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Descriptivo	Media±DE	Mediana	Media±DE
40g OH	5,34±2,53	1,20	17±2645
60g OH	2,64±2,21	0,91	1±0,538
80g OH	4,02±2,77	1,73	17±1156
Comparación Múltiple (ANOVA/ Kruskal Wallis) valor-p			
20g-40g-60g -80g OH	0,166	0,291	0,169
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
40g OH-60g OH	0,176	0,500	0,143
40g OH-80g OH	0,784	0,724	0,614
60g OH-80g OH	0,326	0,398	0,612
Ambos géneros	(E_{max})	(T_{max})	(AUC)
Análisis Post-Hoc (Tukey/ Wilcoxon) valor-p			
40g OH: Hombres vs Mujeres	0,923	0,843	0,713
60g OH: Hombres vs Mujeres	0,018	0,351	0,140

RESULTADOS

Tabla 57: Efectos sedantes (BAES). Post-hoc Tukey tests Curso temporal

Curso Temporal	valor-p H	valor-p M
0,5 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,995
0,75 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
1,5 Horas: 40g vs 60g	0,999	1,000
2 Horas: 40g vs 60g	0,957	1,000
4 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
6 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
8 Horas: 40g vs 60g	1,000	1,000
10 Horas: 40g vs 60g	1,000	0,986

Tabla 58: Efectos sedantes (BAES). Diferencias de géneros Curso temporal

Mujeres	Sedación	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	2,492	0,002
Hombres	Sedación	CT
Dosis (20-40-60-80)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	0,540	0,922
Ambos Géneros	Sedación	CT
Dosis (20-40-60)	Valor-F	Valor-p
Dosis × Tiempo	1,645	0,031

8.3.2.5 Cuestionario de valoración de efectos subjetivos del Addiction Research Center Inventory (ARCI)

Para el análisis de las variables de los cuestionarios (ARCI), los voluntarios fueron consultados en el momento basal y al finalizar la sesión experimental. No se realizó curso temporal para estas variables y por tal motivo no se realizó la AUC. Se utilizaron la media y la mediana como medidas de tendencia central y la desviación estándar para cuantificar la dispersión. Para analizar la asociación entre la dosis de alcohol y cada variable, se aplicaron modelos de ANOVA de dos vías, incluyendo la dosis de alcohol (40g y 60g OH) y el género como factores. Además, se realizó la prueba Kruskal-Wallis, por separado para mujeres y hombres, para probar la hipótesis de que la mediana de E_{max} no depende de la dosis de alcohol. Para estos análisis no paramétricos, se consideraron en todas las dosis de alcohol (20g, 40g y 60g de alcohol en el caso de las mujeres, y de 40g, 60g y 80g en el caso de los hombres). No se encontraron diferencias estadísticamente en el E_{max} y el T_{max} en las diferentes subescalas del ARCI (ARCI MBG, ARCI PCAG, ARCI LSD, ARCI BG, ARCI A)

8.3.2.6 Cuestionario de valoración de efectos subjetivos de sustancias con potencial de abuso (VESSPA)

Para el análisis de las variables de los cuestionarios (VESSPA), los voluntarios fueron consultados en el momento basal y al finalizar la sesión experimental. No se realizó curso temporal para estas variables y por tal motivo no se realizó la AUC. Se utilizaron la media y la mediana como medidas de tendencia central y la desviación estándar para cuantificar la dispersión. Para analizar la asociación entre la dosis de alcohol y cada variable, se aplicaron modelos de ANOVA de dos vías, para la dosis de alcohol (40g y 60g OH) y el género como factores.

RESULTADOS

Además, se realizó la prueba Kruskal-Wallis, por separado para mujeres y hombres, para probar la hipótesis de que la mediana de E_{\max} no depende de la dosis de alcohol. Para estos análisis no paramétricos, se consideraron todas las dosis de alcohol (20g, 40g y 60g de alcohol en el caso de las mujeres, y de 40g, 60g y 80g en el caso de los hombres). No se encontraron diferencias estadísticamente en el E_{\max} ni en el T_{\max} en las diferentes subescalas del VESSPA (VESSPA S, VESSPA SA, VESSPA CP, VESSPA PCS, VESSPA AE, VESSPA SP)

8.3.3 Correlación entre las concentraciones de los biomarcadores de alcohol no oxidativos y concentraciones de alcohol

Con un nivel de confianza del 95% se observó una correlación de tendencia lineal positiva de Pearson ($r = 0.832$) [0,725 0,9] (Figura 31), entre la AUC [10h] de la suma de los Esteres Etilicos de Acidos Grasos y la AUC [10h] de la alcoholemia. La C_{\max} de la suma de los Esteres Etilicos de Acidos Grasos con la C_{\max} de la alcoholemia mostro una correlación no lineal Spearman: $\rho = 0.559$. (Figura 32).

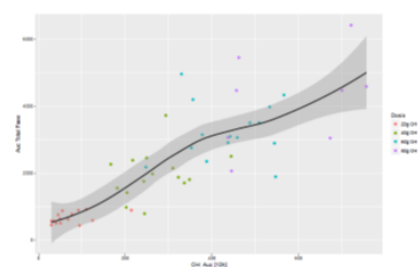


Figura 31. AUC Suma FAEEs vs AUC alcohol.

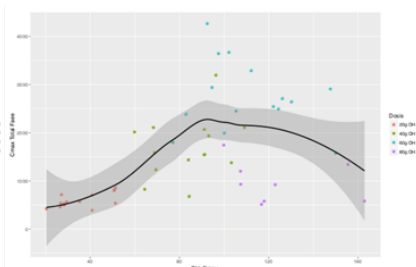


Figura 32. C_{\max} suma FAEEs vs Alcohol C_{\max} .

RESULTADOS

8.3.3.1 Correlacion entre concentraciones de FAEEs suma plasma entre y concentraciones de EtG y de EtS en plasma ajustados con concentraci3n de albumina

Con un nivel de confianza del 95% se observo una correlacion de tendencia lineal positiva de Pearson ($r=0.776$) [0.639, 0.865]. entre la AUC [10h] de la suma de los Esteres Etilicos de Acidos Grasos con el Etilglucur3nido (Figura 33). Cuando estos biomarcadores se controlan con los niveles de albumina basal, en la correlacion parcial no se presentan diferencias en la correlacion del Etilsulfato ($r = 0.776$). Para el etilsulfato en la AUC [10h] tambien se mantiene una correlacion con tendencia lineal ($r = 0.832$) [0.725, 0.9]. (Figura 34). Cuando estos biomarcadores se controlan con los niveles de albumina basal, en la correlacion parcial no se presentan diferencias en la correlacion del Etilsulfato ($r = 0.825$)

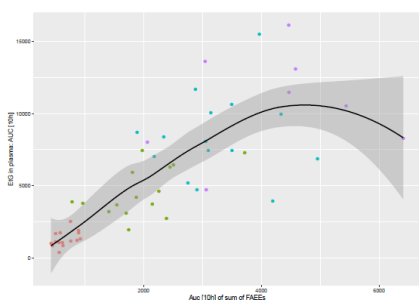


Figura 33. AUC EtG en plasma vs Auc sum FAEEs
Correlacion parcial Albumina)

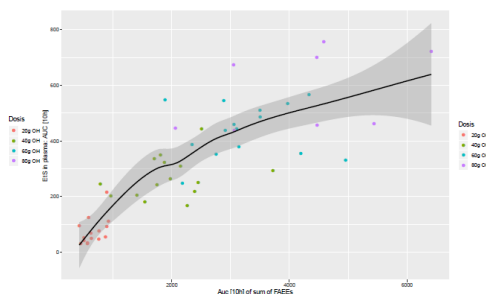


Figura 34. AUC EtS en plasma vs Auc sum FAEEs
(Correlacion parcial Albumina)

Cuando se realiza la correlaci3n tomando la C_{max} total de los Esteres etilicos de 3cidos grasos con la C_{max} del Etilglucur3nido. Se observa con un nivel de confianza del 95% que correlacionan de forma no lineal Spearman: $\rho = 0.621$ (Figura 35), cuando se ajustan con los niveles de albumina basal, la correlacion con la albumina pasa a $\rho=0.584$. Para el

RESULTADOS

etilsulfato, la correlacion tambien se presenta no lineal $\rho = 0.559$ (Figura 36) al ajustar con los niveles de albumina el resultado es $\rho = 0.533$.

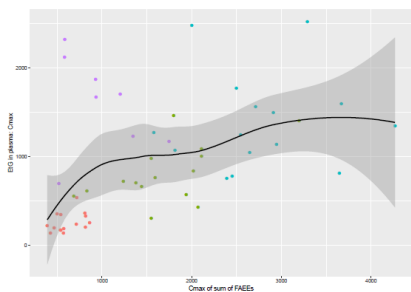


Figura 35. C_{\max} Sum FAEEs vs C_{\max} EtG (Correlación parcial albumina)

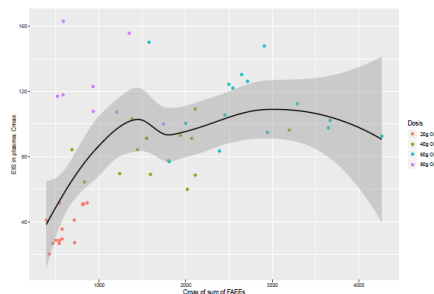
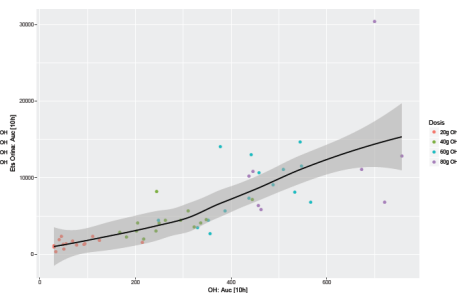
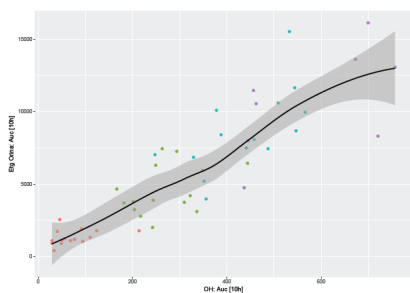


Figura 36. C_{\max} EtS vs C_{\max} sum FAEEs (Correlación parcial albumina)

8.3.3.2 Correlacion entre concentración de alcohol y concentraciones de EtG y de EtS en Orina.

Se observó una correlación lineal positiva en la AUC [10h] de la alcoholemia con los biomarcadores excretados en orina EtG y EtS. Para el EtG, con un nivel de confianza del 95% se observa una correlación de Pearson $r = 0.881$; [0.802, 0.93], (Figura 37) mientras que para el EtS. La correlación se mantiene lineal, pero levemente menor, Pearson: $r = 0.775$ [0.639, 0.864]. (Figura 38).



RESULTADOS

Figura 37. AUC EtG Orina vs. AUC Alcohol en Plasma

Figura 38. AUC EtS Orina vs AUC Alcohol en Plasma

Cuando se realiza la correlación tomando la C_{max} de los biomarcadores en orina se aprecia una gran similitud en el EtG y EtS. Con un nivel de confianza del 95%, el etilglucurónido correlaciona de forma lineal Pearson: $r = 0.694 [0.521, 0.812]$, (Figura 39) al igual que para el EtS, Pearson es $r = 0.751 [0.604, 0.849]$, (Figura 40).

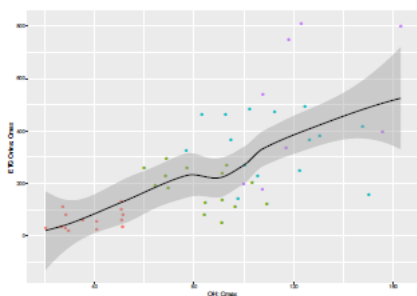


Figura 39. CMAX EtG Orina vs. Cmax Alcohol en Plasma

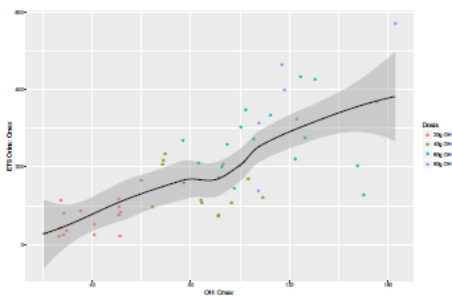


Figura 40. CMAX EtS Orina vs. Cmax Alcohol en Plasma

8.3.3.3 *Correlación entre concentraciones de alcohol y metabolitos no oxidativos de los FAEEs.*

Se observó una correlación positiva alta entre el AUC [10] de las concentraciones de alcohol para las siguientes variables siguientes: el AUC y de los distintos FAEEs. A continuación, se muestran los gráficos de dichas correlaciones. Con un nivel de confianza del 95% la correlación para cada uno de los distintos FAEEs fue: (palmitato: $r=0,871$, [0.786, 0.924] (Figura 41), linoleato: $r=0,654$ [0.466, 0.785] (Figura 42), oleato: $r=0,797$ [0.671, 0.878] (Figura 43), estearato: $r=0,858$ [0.765, 0.916] (Figura 44) y araquidonato $\rho= 0.435$ [0.207, 0.644] (Figura 45)).

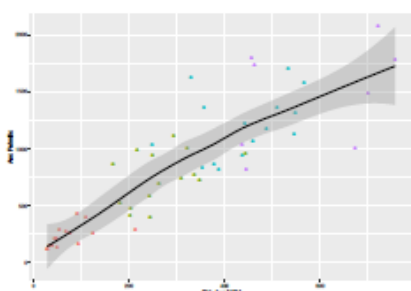


Figura 41. AUC Palmitato vs AUC alcohol

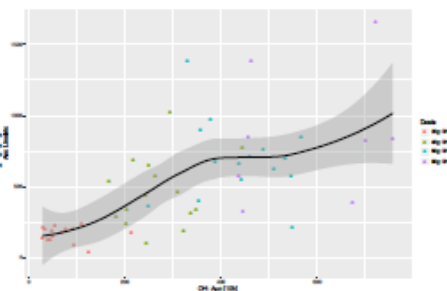


Figura 42. AUC Linoleato vs AUC alcohol

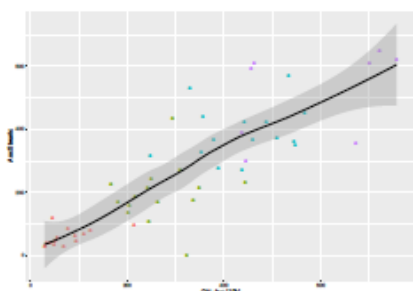


Figura 43. AUC Oleato vs AUC alcohol

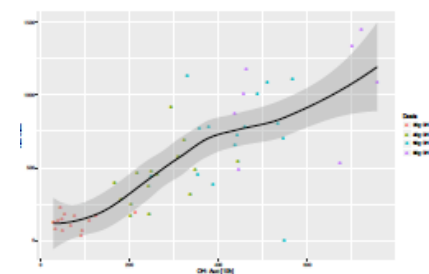


Figura 44. AUC Estearato vs AUC alcohol

RESULTADOS

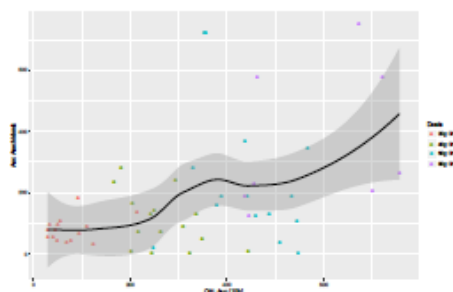


Figura 45. AUC araquidonato vs AUC alcohol

8.3.3.4 Correlacion entre las concentraciones de triglicéridos y suma de metabolitos no oxidativos de los FAEEs

Se observo una correlacion tendencial lineal en la AUC [10h] de la suma de los Esteres etilicos de ácidos grasos con la AUC [3h] de los trigliceridos (Figura 46) Con un nivel de confianza del 95% correlación de Pearson: $r = 0.337 [0.073, 0.556]$. Entre la C_{max} de la suma de los Esteres etilicos de ácidos grasos con la C_{max} de los trigliceridos (Figura 47), se observo una correlacion no lineal Spearman: $\rho = 0.133$.

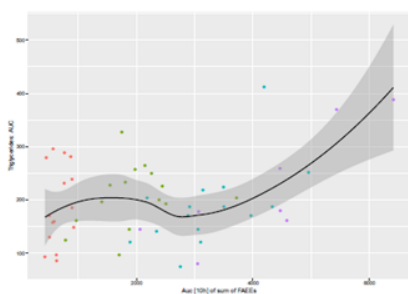


Figura 46. AUC[3h] TG vs AUC [10h] sum FAEEs.

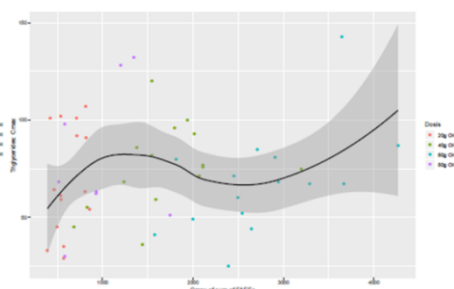


Figura 47. C_{max} TG vs C_{max} sum FAEEs.

8.3.4 Acontecimientos adversos

A lo largo del estudio se recogieron 54 acontecimientos adversos (AA) en 53 voluntarios. El AA más prevalente fue la cefalea (36 casos). Todos ellos fueron leves, exceptuando un síncope vasovagal, en el momento de la extracción sanguínea de intensidad moderada cuyo resultado fue resuelto sin incidencias. No se comunicó ningún acontecimiento adverso grave y/o inesperado.

La mitad de los AA se consideró que podían estar relacionados con el tratamiento. Concretamente todas las cefaleas reportadas varias horas después de la administración (20 casos), unas náuseas, un mareo y una inestabilidad de la marcha. Las cefaleas reportadas por la tarde, o a las 24h post-administración eran probablemente un síntoma de resaca al beber en ayunas a primera hora de la mañana. Se puede concluir que en general las distintas dosis de alcohol fueron bien toleradas. Ninguno de los voluntarios vomitó la bebida administrada. Algunos voluntarios tuvieron dificultades para ingerir la dosis de 80 g porque estaba muy concentrada y comentaron que tenía mal sabor.

Los casos restantes de cefaleas (16) en la secuencia temporal no estuvieron relacionados con el producto e investigación. Todos los efectos adversos, se resolvieron de forma autolimitada.

9 DISCUSIÓN

Los resultados principales de esta tesis son que las concentraciones de los metabolitos no oxidativos del alcohol (FAEEs, EtG y EtS) aumentan en relación con la dosis de alcohol administrada y que la relación entre el área bajo la curva de las concentraciones de los distintos metabolitos y la dosis de alcohol es no lineal. Se observa además una correlación lineal positiva entre el área bajo la curva de las concentraciones de alcohol y la de los diferentes metabolitos no oxidativos. A su vez, el tiempo de detección para la mayoría de los metabolitos es superior al del alcohol (el tiempo de detección máximo de los FAEEs para la dosis más alta, de 80 g, es similar al del alcohol, mientras que para EtG/EtS es superior a las 10 horas, alcanzando hasta las 48 horas en orina).

Estos datos complementan los de un estudio previo (98) en el que se administraron dosis más bajas de alcohol (hasta 42g) en hombres. El estudio incluido en esta tesis comprende un rango de dosis evaluadas más amplio (de 20 a 80 g) y han participado tanto hombres como mujeres, de modo que permite la comparación de las concentraciones máximas, del área bajo la curva y del perfil temporal de los distintos metabolitos no oxidativos del alcohol (FAEEs, EtG y EtS) entre ambos géneros. En general se ha observado que las concentraciones de EtG y EtS en plasma son superiores en mujeres que en hombres mientras que para los FAEEs depende de la dosis administrada.

El interés por los metabolitos no oxidativos del alcohol ha crecido en los últimos años debido a su potencial relevancia para propósitos clínicos, médicos y forenses. A diferencia de los biomarcadores tradicionales del alcohol, que son parámetros clínicos utilizados rutinariamente para el diagnóstico del consumo crónico de alcohol y su detección generalmente se debe a los efectos tóxicos que el alcohol produce en el organismo. Estos

DISCUSIÓN

marcadores indirectos de consumo han sido comentados en la introducción de esta memoria. (66)

La determinación de las concentraciones de alcohol y de sus metabolitos no oxidativos en diferentes matrices biológicas confirma con una alta sensibilidad y especificidad el consumo reciente de alcohol, en una determinada ventana temporal (varía según el biomarcador). Estas determinaciones permiten estimar la cantidad y momento en que se ha consumido el alcohol en el caso de las intoxicaciones y hacer un seguimiento de la abstinencia en los consumidores crónicos. En el estudio previo (98) tras la administración de etanol a dosis que producen una intoxicación de baja a moderada (6-42 g) a voluntarios sanos se detectaron concentraciones de metabolitos no oxidativos del etanol como los FAEEs al menos durante 6 h en sangre y de EtG al menos hasta 24 horas en orina. Las concentraciones de FAEEs ($AUC_{0-6\text{ h}}$, C_{max}) y la excreción de EtG (0-24 h) mostraron una alta correlación con la dosis de etanol administrada. Ambos metabolitos aumentaron a medida que lo hizo la dosis de alcohol y se observó que sus tasas de formación no seguían una tendencia lineal. No obstante, la relación entre el $AUC_{0-6\text{ h}}$ de alcohol y sus metabolitos sí que fue lineal.

Son múltiples los ensayos clínicos que han determinado estos metabolitos tras el consumo de alcohol, sin embargo, hay muy pocos de ellos que se hayan administrado un rango de dosis tan amplio como en este estudio. Las dosis administradas comprenden desde un consumo leve o patrón de consumo mediterráneo, hasta dosis altas que pueden generar una intoxicación en ambos géneros. Este estudio integra datos sobre las concentraciones de los biomarcadores / metabolitos de alcohol más comúnmente descritos en la literatura (FAEEs, EtG EtS), sus diferentes tasas de eliminación y permite correlacionar las concentraciones con los

DISCUSIÓN

efectos subjetivos que producen las distintas dosis de alcohol administradas.

Cabe destacar que los resultados de esta tesis doctoral se han obtenido en voluntarios sanos que no cumplen criterios de abuso de alcohol y que no tienen enfermedades intercurrentes como insuficiencia renal o hepática. Ambos factores podrían modificar tanto las concentraciones de alcohol como sus efectos subjetivos, y del mismo modo también podrían alterar la farmacocinética de los distintos metabolitos no oxidativos.

Los resultados de nuestro estudio son congruentes y similares a los que se han observado en estudios experimentales previos (73,75,99). En estos estudios se demuestra que a medida que aumenta la dosis de alcohol aumentan sus concentraciones y tiempo de detección, observándose un incremento en la C_{max} lineal a medida que aumenta la dosis de alcohol, mientras que para el AUC la relación pierde la linealidad. Para algunos de los metabolitos en otros estudios también se observa también que el AUC se produce un mayor incremento con las diferentes dosis.

La discusión de esta memoria se ha dividido en varios apartados considerando las diferentes variables estudiadas, los sujetos y las dosis de alcohol seleccionadas. Además, en la discusión se ha hecho énfasis en justificar las diferencias de género encontradas en la farmacocinética y farmacodinamia del alcohol, centrándose en la detección de alcohol en sangre, la detección de los biomarcadores no oxidativos en diferentes matrices biológicas, en los efectos subjetivos del alcohol y en los cambios producidos en las constantes vitales.

9.1 Farmacocinética del alcohol

En el estudio se administraron dosis de alcohol entre 20 y 80 g. Las concentraciones de alcohol en sangre obtenidas, como era de esperar, aumentaron con la dosis de alcohol administrada en ambos géneros siguiendo para la C_{max} una relación lineal con la dosis mientras que para el AUC la relación dejó de ser lineal a dosis elevadas. Las concentraciones máximas de alcohol fueron más altas en las mujeres que en los hombres, y también se observó que la t_{max} del alcohol se retrasaba con las dosis más altas en hombres en comparación con las dosis bajas, algo que no sucedió en las mujeres. Las diferencias de género en la farmacocinética del alcohol ya se habían constatado en estudios previos. Las concentraciones de alcohol superiores en las mujeres después de consumir cantidades equivalentes a las de los hombres (100) se atribuyen a un menor volumen de distribución (V_d) en las mujeres y a una disminución de la ADH gástrica, lo que resulta en una disminución del metabolismo de primer paso y un aumento de la biodisponibilidad (19). Por este motivo las concentraciones de alcohol en las mujeres fueron superiores para todas las dosis a las de los hombres, resultando en diferencias significativas entre géneros en la C_{max} , AUC y curso temporal. El área bajo la curva de las concentraciones de alcohol de 0 a 10h (AUC10h) fue más alta en las mujeres que en los hombres para las 3 dosis que fueron comparadas, lo que a su vez coincide con el aumento en las concentraciones máximas (C_{max}) en las mujeres.

Por otro lado, se observaron importantes diferencias entre sujetos de un mismo género para una misma dosis. El coeficiente de variación para las distintas dosis de alcohol en la alcoholemia fue del 25-56% en hombres y de el 41-56% en las mujeres. Las diferencias interindividuales en las concentraciones de alcohol se deben a múltiples factores como el estado nutricional, la dieta, la etnia y la genética (101). Los cambios en la función gastrointestinal (vaciamiento gástrico, tiempo de tránsito intestinal y flujo

DISCUSIÓN

sanguíneo portal) también se deben tener en consideración y pueden explicar la variabilidad.

El ritmo de vaciado gástrico tiene un impacto significativo en la velocidad a la que se absorbe el alcohol, porque el alcohol se absorbe mucho más rápido desde el intestino delgado que desde el estómago (34,102) lo que podría explicar las diferencias en la t_{max} con las distintas dosis halladas en los hombres.

La evidencia sugiere que en las diferencias en la farmacocinética del alcohol entre hombres y mujeres también intervienen, al menos parcialmente, los niveles de hormonas sexuales. Las hormonas contribuyen a la variabilidad en la absorción, distribución y metabolismo del alcohol (103,104). Así por ejemplo, el aumento de los niveles séricos de progesterona en las mujeres se asoció con tasas más rápidas de eliminación del alcohol, algo que no sucedió en los hombres (105). Sin embargo, los cambios en los niveles de estradiol y progesterona relacionados con el ciclo menstrual no afectaron el metabolismo del alcohol o explicaron las diferencias de género en el metabolismo del alcohol en otros estudios en humanos (18,106). En nuestro estudio uno de los criterios de inclusión requería que las mujeres participantes tuvieran un ciclo menstrual de duración entre 26-32 días y que fuera regular. Sin embargo, no se controló la fase del ciclo menstrual ya que podían participar independientemente de la fase del ciclo en que se encontraran el día de la sesión experimental. Un estudio que evaluó el efecto del ciclo menstrual sobre la farmacocinética del etanol en diez mujeres caucásicas encontró que la farmacocinética del etanol no era diferente entre las fases lútea y folicular (107) y por este motivo se decidió no tenerlo en cuenta en el estudio. Por otro lado, dado que el papel de los anticonceptivos orales sobre la farmacocinética del alcohol es controvertido, se decidió excluir a las mujeres que los tomaban del estudio. En este sentido la toma de

anticonceptivos orales se asoció con mayores niveles de acetaldehído en algunos estudios (108)(109), mientras que en otros se reportaron menores tasas de eliminación y desaparición del etanol (27) o no se reportó ningún efecto sobre el metabolismo del alcohol (28,29). El uso de estos medicamentos hubiera sido un factor de confusión de cara a comparar hombres y mujeres. Su uso podría haber modificado las concentraciones en las mujeres que los tomaran e introducir mayor variabilidad.

9.2 Dosis de alcohol seleccionadas

Se escogieron distintas dosis de alcohol para poder estudiar la relación entre la dosis de alcohol y la formación de los distintos metabolitos no oxidativos. Las dosis escogidas abarcaban desde un patrón de consumo mediterráneo de 20 g alcohol, correspondiente a 2 copas de vino, hasta dosis que producían claramente una intoxicación, 80 g de alcohol, correspondiente a 8 copas de vino. Según el NIAAA (110) se define como un consumo moderado de alcohol el de hasta 1 bebida al día para las mujeres y de hasta 2 bebidas al día para los hombres. Según la OMS, mientras que el consumo de riesgo se sitúa entre los 40-60 gramos de alcohol puro al día en el caso de los hombres (4-6 UBE), en las mujeres es de 20-40 gramos (2-4 UBE). Superados esos 60 ó 40 gramos al día (6-4 UBE) respectivamente, el consumo puede ser perjudicial, es decir, tiene efectos sobre la salud física y/o mental, y puede derivar en dependencia.

En nuestro estudio, las dosis de alcohol administradas fueron de 2-6 UBE para las mujeres y en hombres de 2-8 UBE, por lo que las dosis administradas, abarcaban una gran variedad de dosis para ambos géneros que iba desde un patrón de un consumo moderado a un consumo de riesgo. Estudios realizados por otros investigadores y otros realizados en nuestra unidad habían administrado dosis únicas de alcohol similares y/o

DISCUSIÓN

superiores en voluntarios sanos sin que llegaran a presentar acontecimientos adversos clínicamente relevantes, por lo que se consideró segura su administración.

Una de las razones para no estudiar la dosis de 80 g en ambos géneros en nuestro estudio es que se consideró que las concentraciones de alcohol en mujeres iban a ser demasiado altas como para ser bien toleradas (la alcoholemia previsible en mujeres de unos 60-65kg con una dosis de 80 g es de 2 a 2,2 gramos/L). Las mujeres comienzan a tener problemas relacionados con el alcohol a niveles más bajos que los hombres. Una razón es que, en promedio, las mujeres pesan menos que los hombres. Además, el alcohol se dispersa en el agua del cuerpo, y libra por libra, las mujeres tienen menos agua en su cuerpo y mayor porcentaje de grasa que los hombres. Así pues, después de que un hombre y una mujer del mismo peso consuman la misma cantidad de alcohol, la concentración de alcohol en la sangre de la mujer tenderá a ser más alta debido a que tendrá un menor volumen de distribución, acorde a la fórmula siguiente: $\text{concentración inicial} = \text{dosis} / \text{volumen distribución}$.

Aunque no existe un consenso mundial sobre la ingesta máxima diaria recomendada (o los límites seguros) de alcohol algunas de las dosis administradas en este estudio (60-80g) exceden claramente las recomendaciones. En el metaanálisis realizado por (Di castelnuovo et al. 2006) (111), dosis de hasta 40 g al día en los hombres y de hasta 20 g al día en las mujeres redujeron la mortalidad total y la cardiovascular. Dosis mayores se asociaron con un aumento de la mortalidad. En otro estudio se observó que el menor riesgo de enfermedad coronaria ocurría con 1-2 bebidas al día, mientras que el menor riesgo de ictus ocurría con un máximo de 1 bebida al día (112).

DISCUSIÓN

En la actualidad se considera el alcohol como un problema de salud global colosal en el que las reducciones de los daños relacionadas con la salud asociados a niveles bajos de consumo de alcohol son superadas por el mayor riesgo de otros daños relacionados con la salud, incluido el cáncer (5).

Los efectos subjetivos producidos por las dosis bajas de alcohol de 20 y 40 g de alcohol fueron leves, en comparación de las dosis altas de 60 y 80 g. A pesar de ello las bebidas fueron bien toleradas. No se produjeron acontecimientos adversos graves ni cambios importantes en las constantes vitales, por lo que estas dosis podrían utilizarse en futuros estudios. Para algunos individuos, consumidores recreacionales de alcohol, estas dosis se encuentran entre las dosis habituales los días de mayor consumo (fin de semana). Las dosis más altas administradas en el estudio cumplen con los criterios de consumo de alcohol en atracón o *binge drinking*, que consiste en el consumo de al menos 4 bebidas en las mujeres y de al menos 5 bebidas en los hombres en un intervalo máximo de 2 horas, alcanzando alcoholemias de 80 mg/dl (113).

Decidimos administrar a los voluntarios dosis fijas de alcohol y no ajustadas al peso porque queríamos reflejar una situación de consumo más realista. Se administraron dosis de alcohol de 2, 4, 6 y 8 UBE, todas ellas múltiples de la dosis más baja para facilitar las comparaciones.

Las dosis administradas teniendo en cuenta el peso de los voluntarios fueron las siguientes: la dosis de 20 g en las mujeres incluídas representó una dosis de 0,34 g/kg vs. 0,28 g/kg en los hombres, la de 40 g 0,68 g/kg en las mujeres vs. 0,61 g/kg en los hombres, la de 60 g 0,90 g/kg en las mujeres vs 0,82 g/kg en los hombres y la de 80 g 1g/kg en los hombres.

9.3 Sujetos seleccionados

En nuestro estudio se pretendía estudiar principalmente la relación de los biomarcadores no oxidativos del alcohol con la dosis, tras la administración de diferentes dosis únicas de alcohol. Para ello los sujetos deberían ser sanos y que no tuvieran ninguna enfermedad que pudiera alterar el metabolismo del alcohol, por lo que principalmente fueron escogidos adultos jóvenes, la mayoría estudiantes, de ambos géneros.

En un estudio previo se comparó el AUC de 0 a 6h (AUC0-6h) y la C_{max} de alcohol en hombres y mujeres teniendo en cuenta la edad (114). Se administraron cantidades iguales de etanol [0,3 g/kg en 8 onzas (236 mL) de zumo de frutas] en ayunas a hombres y mujeres jóvenes (entre los 21 y 40 años de edad) y a hombres y mujeres de mayor edad (más de 60 años.). El AUC0-6h de etanol fue más alta en los hombres mayores que en los jóvenes, y en el caso de las mujeres las de mayor edad tuvieron mayor C_{max} y AUC0-6h. Sin embargo, las diferencias relacionadas con la edad en la farmacocinética del etanol no se observaron cuando el etanol se consumía después de una comida. Así pues, las concentraciones máximas de alcohol pueden ser significativamente más altas para las mujeres mayores que para los hombres mayores y la diferencia de edad puede ser eliminada cuando el etanol es ingerido con una comida de carbohidratos. Las mujeres mayores estarán expuestas a una cantidad significativamente mayor de alcohol cuando beben en ayunas que los hombres mayores o las personas más jóvenes de ambos géneros y tienen por tanto mayor riesgo de padecer las complicaciones generadas con el consumo de riesgo de alcohol. Los futuros estudios experimentales podrían diseñarse en sujetos con diferentes rangos de edad de modo que sus resultados serían extrapolables a las personas de mayor riesgo.

Por otro lado, el patrón de consumo de alcohol en atracón previamente descrito se ha relacionado también con un mayor número de complicaciones para la salud.

9.4 Biomarcadores no oxidativos en plasma

9.4.1 Esteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs)

Son múltiples los ensayos clínicos (41,72,74) que han determinado estos metabolitos tras el consumo de alcohol, sin embargo, hay muy pocos de ellos en los que se hayan administrado tantas dosis de alcohol a ambos géneros. Además, los estudios identificados no acostumbran a obtener datos de otros biomarcadores simultáneamente.

Los FAEEs analizados en nuestro estudio se corresponden con los esteres etílicos más descritos en la literatura. Las concentraciones del etil palmitato y el etil oleato fueron con diferencia los ésteres etílicos de ácidos grasos más predominantes en la sangre después de la ingestión de alcohol con las diferentes dosis administradas para ambos géneros, lo que coincide con estudios previos (41,98,115).

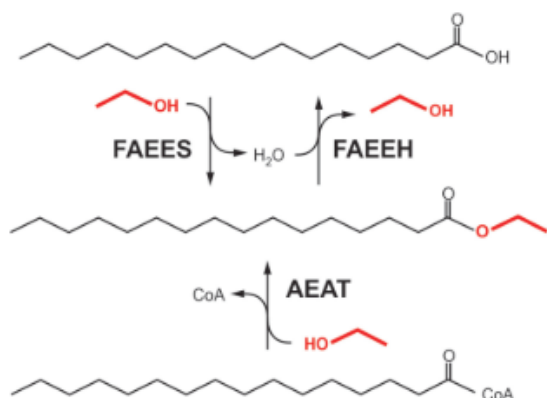
Se observa en nuestro estudio una relación no lineal entre el AUC de los distintos FAEE y la dosis de alcohol administrada. El aumento en el AUC es más marcado entre los 20 y los 40 g de alcohol.

En relación con la C_{max} y el AUC de los diferentes FAEEs diferenciados por dosis y géneros, pudimos observar los resultados que se citan a continuación. La C_{max} de los diferentes FAEEs detectada y la dosis de alcohol ingerida estaban relacionadas. A mayor dosis administrada mayor concentración máxima de FAEEs. Esta premisa se cumplió para ambos géneros hasta las dosis de 60 g. A dosis de 80 g en hombres la C_{max} de los FAEE fue similar a la dosis de 60 g y en algunos casos incluso ligeramente inferior. Este resultado se presentó para la mayoría de los FAEEs a excepción del etil palmitato. Sin embargo, a diferencia de la C_{max} ,

el AUC era superior con la dosis de 80g, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en todos los FAEEs a excepción del linoleato y del araquidónico.

Este fenómeno posiblemente sea debido a una saturación enzimática debido a que, en humanos, como se comentaba en la introducción, los FAEEs están formados por un proceso en la esterificación del etanol facilitado por dos enzimas: FAEE sintasa y acil-CoA/etanol O-acil-transferasa (Figura 48). Las sintasas de los FAEEs se encuentran principalmente en el hígado y el páncreas. La formación de FAEEs depende de la dosis y de la concentración de alcohol en sangre (BAC). La esterificación de ácidos grasos con etanol es más prominente cuando la BAC es alta y las vías oxidativas están saturadas (116).

Figura 48. Formación y degradación enzimática de los FAEEs (modificada de Heier C, Xie H) (59)



En consecuencia, los tejidos que tienen un metabolismo oxidativo limitado pueden tener más etanol para ser metabolizado a través de la vía no oxidativa (117). La relación entre las dos vías metabólicas para el etanol se ha demostrado ya que existe acumulación de FAEEs en el tejido en

DISCUSIÓN

presencia de inhibidores del metabolismo oxidativo del etanol (116,118,119). Específicamente, se observó que la inhibición del metabolismo oxidativo del etanol dió lugar a un aumento de dos a tres veces del metabolismo no oxidativo del etanol en ratas (116) y a un aumento significativo de los FAEEs en el páncreas, el plasma y el hígado *in vivo* en ratas (119). Estos resultados fueron corroborados por otro estudio en humanos (23), que demostró un aumento de los FAEEs en plasma tras la inhibición del metabolismo oxidativo del etanol por el tratamiento con 4-metilpirazol. Además, esto se demostró en líneas celulares derivadas de tejido hepático humano tumoral (Células HepG2), que son inherentemente deficientes en ADH (120). En general, es evidente que las vías oxidativas y no oxidativas están metabólicamente unidas y el aumento de la producción de los FAEEs se debe a un cambio de las vías oxidativas hacia las vías no oxidativas de etanol por exceso de sustrato (116).

Las concentraciones del etíli linoleato y del ácido araquidonato fueron inferiores a los otros FAEEs. Los únicos dos ácidos grasos esenciales para el ser humano son el α -linolénico (18:3 ω -3) y el linoleico (18:2 ω -6). Al ser dos ácidos grasos esenciales que se obtienen de la dieta requieren de la ingestión de un precursor en la dieta para generarlos, y esta sería la explicación para las menores concentraciones de linoleato en nuestro estudio. Los ácidos grasos esenciales se encuentran sobre todo en el pescado azul, las semillas y frutos secos, como las de girasol, linaza o las nueces y en aceites el de oliva o pescado. El desayuno que recibieron los voluntarios no contenía estos alimentos.(121)

En nuestro estudio se ha observado que las mujeres tenían valores de C_{max} y AUC0-10h para los distintos FAEEs (excepto linoleato) discretamente superiores que los hombres, sobre todo con 20 y 40 g, si bien en la mayoría de casos estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Las

DISCUSIÓN

diferencias significativas entre hombres y mujeres fueron encontradas con las dosis de 60 g para las concentraciones de etil linoleato y de etil araquidónico, siendo superiores en el caso de los hombres. Estas diferencias coinciden con estudios previos (22,23) donde tras la ingesta de etanol se observó un pico de FAEEs aproximadamente dos veces superior en los hombres en comparación con las mujeres. Este hecho sorprende si se tiene en cuenta la mayor tasa de alcoholemia en las mujeres, y por tanto mayor cantidad de alcohol que puede transformarse en FAEEs. De hecho las mujeres alcanzan concentraciones más altas de alcohol en la sangre que los hombres por cantidades iguales de etanol ingerido (23). Tienen un metabolismo de etanol de primer paso disminuido en el estómago, lo que permite el transporte de grandes cantidades de etanol desde el tracto gastrointestinal a la sangre, además tienen una actividad reducida de la enzima ADH a nivel gástrico a diferencia de los hombres y, por lo tanto, una menor tasa de metabolismo.

Entre las posibles explicaciones de por qué las mujeres pueden tener concentraciones máximas más bajas de FAEEs está que las mujeres en este estudio eran todas premenopáusicas, y por tanto tenían concentraciones bajas de triglicéridos. Además, podría ser que en las mujeres haya una disminución de la actividad de las enzimas necesarias para la síntesis de los FAEEs o un aumento de la actividad de las enzimas implicadas en la degradación de los FAEEs (22). Dado que los FAEEs son tóxicos (119,122) las menores concentraciones en mujeres podrían representar un intento de reducir la toxicidad mediada por el etanol (18,19). Se ha reportado que la lipoproteína lipasa tiene FAEEs actividad sintética. Otra enzima que degrada el triglicérido, la lipasa de carboxiléster, ha demostrado tener actividad sintética de FAEEs menor en mujeres que hombres (15). Por otro lado, las variaciones en la distribución de los diferentes FAEEs, la acumulación de los FAEEs en tejidos específicos o

los altos niveles de circulación de los mismos podrían explicar las concentraciones superiores halladas en los hombres.

9.4.2 Etilglucurónido (EtG) y Etilsulfato (EtS)

Los principales hallazgos de nuestra investigación con respecto al EtS y EtG, al igual que con los FAEEs, son que tras la administración de las diferentes dosis de alcohol existe una alta correlación entre el área bajo la curva de las concentraciones de EtG y EtS en plasma y el AUC del alcohol. Además, se observa un mayor incremento de las concentraciones a partir de los 40g. A diferencia de los FAEEs las concentraciones para el EtG y EtS se detectaron más allá de las 10h post administración, llegando a un periodo de detección de casi 20h para las dosis altas (60 – 80g en hombres y 60 g en las mujeres) y siendo más útiles por tanto para detectar consumos en las 12 horas previas. Estos datos concuerdan con los expuestos en otro estudio (123). En general, en relación con la C_{max} y el AUC del EtG y EtS, diferenciados por dosis y géneros, se pudieron observar los resultados que se describen a continuación. En el caso del EtG la C_{max} con 40 g fue 3 veces superior a la de 20g. Las diferencias entre las concentraciones con las dosis altas (60 vs. 80 g) fueron mucho menores. Las diferencias entre géneros fueron estadísticamente significativas para el AUC con la dosis de 60g (más en mujeres que en hombres). Con respecto al EtS, las concentraciones con 40 g también fueron 3 veces superiores a la de 20g. De igual manera las diferencias entre las concentraciones con las dosis altas (60 vs 80 g) fueron mucho menores. Las diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres se encontraron para el AUC y para la C_{max} con las dosis de 60g (en todos los casos superiores para las mujeres).

Las diferencias entre géneros para EtG y EtS, con mayores concentraciones en la mujeres, pueden ser debidas a la saturación de la vía metabólica principal del etanol (ADH) y una mayor disponibilidad de

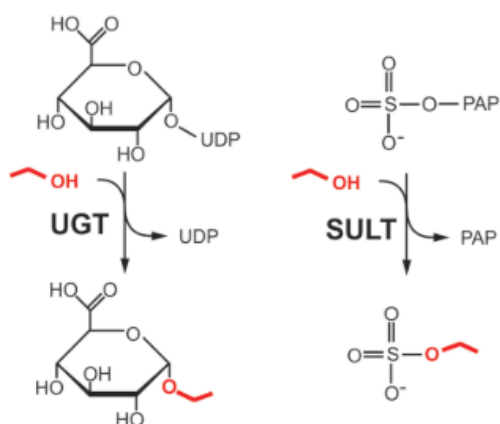
DISCUSIÓN

sustrato para las rutas de conjugación (98,124,125). El EtG y EtS son metabolitos de la fase II del metabolismo no oxidativo del alcohol, catalizados por las enzimas UDP glucoroniltransferasa (UGT) superfamilia que utiliza UDP Acido glucoronido como cofactor o la sulfotransferasa que utiliza 3'-fosfadenosina-5'-fosfosulfato como cofactor. Una pequeña cantidad (<0.1%) puede conjugarse y ser excretada como Etilglucurónido y Etilsulfato, respectivamente.(75)

La importancia de relacionar los niveles de EtG y EtS con el tipo de consumo, se explica si entendemos que aproximadamente el 95% del etanol absorbido se biotransforma en acetaldehído y que, del etanol restante, una fracción muy pequeña (< 0,1%) puede conjugarse y formar EtG y EtS. En nuestro estudio esta fracción también es inferior al 1%.

La formación del EtG y EtS (Figura 49) se realiza por medio de múltiples isoformas de UGT, pero sólo la UGT1A1 y la UGT2B7 parecen desempeñar un papel importante (35,61).

Figura 49. Formación de EtG y EtS por la UGT y SULT (modificado de Heier C, Xie H)(126)



Con respecto al tiempo en alcanzar la concentración máxima o t_{max} existen diferencias entre los 2 biomarcadores. Para el EtS la t_{max} a dosis bajas se presentaba desde las 2h y se retrasaba hasta 4h con las dosis altas. Para

DISCUSIÓN

el EtG con dosis bajas la t_{max} se presentó a las 3h y con dosis altas se presentó entre las 5 y 6 h. Estas diferencias en la t_{max} son debidas a que el EtG es un metabolito de fase II del EtOH, que tiene un peso molecular de 222 g/mol (127), mientras que el EtS tiene un peso molecular de 126 g/mol (128).

Los niveles de EtG fueron ligeramente superiores a los de EtS en todos los sujetos a excepción de las dosis de 20g. Este dato es congruente con algunos estudios (59,63,129) mientras que en otros se han reportado concentraciones similares, tanto en suero como en orina. Otra posible fuente de variación interindividual en las concentraciones de EtG y EtS son los cambios en su excreción. La eliminación prolongada en un sujeto con enfermedad renal causaría niveles más altos durante un período de tiempo más largo (130)

En los estudios publicados los niveles de EtG en sangre también son mayores cuando se ingieren dosis mayores de etanol (129,131). Este hecho indica que las enzimas de conjugación hepática que regulan la formación de EtG y EtS; UDP-glucuronosil transferasa (UGT), en su mayoría 1A1 (35,127), y sulfotransferasa (SULT) (132) no están saturadas a las dosis de alcohol investigadas.

Los hallazgos de estudios previos (59,63,129) demuestran que las concentraciones máximas de EtG y EtS en sangre se alcanzan 2-3,5 h después del pico de alcohol y son detectables hasta 4-8 h después de la eliminación por completo del alcohol. En estos estudios se describe que el tiempo de detección del EtG en sangre es hasta 8 horas más largo que el del alcohol mientras que el EtS puede detectarse en plasma aproximadamente el doble de tiempo que el alcohol. Ambos biomarcadores pueden detectarse en la sangre poco después del consumo de alcohol (<45 minutos) (72,133)

9.4.3 Excreción en orina del Etilglucurónido (EtG) y del Etilsulfato (EtS)

Para el EtS y el EtG se calculó la excreción urinaria de 0 a 72 h mediante la suma de las cantidades excretadas en cada uno de los intervalos en que se recogió orina (0-6 h, 6-12 h, 12-24 h, 24-48 h, 48-72 h). Con respecto a la C_{max} y AUC en orina para el EtS y EtG diferenciados por dosis y géneros, pudimos observar los siguientes resultados. Se observó un aumento en función del tiempo en cantidad de EtS/EtG excretada después de la administración de las diferentes dosis de alcohol en ambos géneros. Esto ocurrió en menor medida después de la dosis de 80g en comparación con la dosis de 20g. Todas las muestras positivas en plasma para EtG y EtS fueron positivas en orina para estos metabolitos en todos los voluntarios. Se observaron diferencias en las C_{max} y las AUC de las concentraciones obtenidas en las diferentes matrices biológicas (plasma vs. orina) para el EtS y el EtG. En orina, las C_{max} para todas las dosis y en ambos géneros, fueron superiores a las de plasma. Las determinaciones orina de EtG y EtS fueron positivas hasta las 48h post administración. Para el AUC en orina las diferencias aparecen a partir de los 40g con todas las dosis y en ambos géneros, tanto para el EtG como para el EtS. A pesar de ello no se evidenciaron diferencias significativas entre géneros para las diferentes dosis en el AUC y en la C_{max} en orina para ambos metabolitos. La t_{max} para EtG-EtS con todas las dosis se produjo a las 6h, exceptuando la dosis de 80g en que la t_{max} para el EtG fueron 12h.

Podemos confirmar que después de un solo episodio agudo de ingesta de alcohol, el EtG y el EtS en orina permanecen detectables durante 22-48 h (dependiendo de la dosis administrada) y que el periodo de detección en plasma para EtG y EtS supera al del alcohol en sangre en 4-8 h (6,7). El periodo de detección en orina se ha descrito que puede ser muy superior, de 40 hasta 130 h en bebedores empedernidos después de la abstinencia

DISCUSIÓN

(23). La excreción de EtG y del EtS se produce principalmente a través de la orina y se ha demostrado que representa una pequeña parte ($<0,1\%$) de la eliminación total de etanol. En nuestro estudio, el porcentaje de μmoles excretados en 72h para el Etilglucurónido fue superior que, para el Etilsulfato en todas las dosis, en la de 20g EtG vs EtS (0,018% vs 0,016%) en la de 40g EtG vs EtS (0,034% vs 0,026%), en la de 60 EtG vs EtS (0,051% vs 0,035%) y en la de 80 EtG vs EtS (0,058% vs 0,039 %). Así pues el porcentaje del alcohol ingerido que corresponde a la producción del etil glucoronido es del 0,02-0,06% y para el etil sulfato es de 0,010-0,016% (61,66).

Al obtener concentraciones más altas de EtS y EtG en orina, sugiere que las mediciones de estos biomarcadores son más sensibles en orina que en sangre como ya ha estado expuesto previamente (134). Las concentraciones en orina de EtG fueron superiores a las de EtS debido a que el EtG estuvo más concentrado en orina debido a su alto peso molecular.

Nuestros datos sugieren que el porcentaje de etanol excretado como EtS es comparable al de EtG ($<0,1\%$) (135). La posibilidad de obtención de ambos biomarcadores en orina (EtG-EtS) puede resultar en una ventaja significativa al sugerirse el uso complementario de estos marcadores o, quizás, que un marcador pueda servir de confirmación para el otro.

Una de las limitaciones del estudio fue que las concentraciones de EtG y EtS no se normalizaron a una concentración de creatinina.

El EtG y el EtS siempre fueron mucho más altos en orina que en suero y tuvieron un curso de tiempo similar tanto en suero como en orina en todos los sujetos. Al comparar nuestros resultados con los de otros estudios (73,136), obtuvimos concentraciones máximas de EtG y EtS muy similares en suero, mientras que la C_{max} urinaria fue ligeramente superior. Debido a que la excreción de EtG y EtS se ve afectada por la ingesta de agua,

DISCUSIÓN

normalizamos las concentraciones en comparación con el volumen de orina y los valores de creatinina. Encontramos mejores resultados en términos de menor intervariabilidad, cuando las concentraciones se normalizaron usando el volumen de orina y los valores expresados como masa excretada por unidad de tiempo (Tabla 2). En muchos voluntarios, después de la administración de 4 y 8 UBE, las concentraciones urinarias de EtG y EtS muestran una respuesta bifásica de perfil temporal. Esto es menos obvio cuando los valores se normalizan contra el volumen de orina y/o las concentraciones de creatinina.

Por otro lado, las concentraciones de EtG en orina siempre fueron más altas que las concentraciones en sangre coincidiendo con los datos de estudios previos (72,75,123). Otra posible limitación en la correcta detección de ambos biomarcadores es el potencial de formación y degradación *in vitro* de los mismos, tal y como han descrito por algunos autores (136–139). La hidrólisis de EtG causada por microbios en infecciones del tracto urinario, especialmente *Escherichia coli*, es completa en 3-4 días (138) mientras que para EtS se demostró una estabilidad de la muestra de hasta 11 días (137). Tratándose de voluntarios sanos y teniendo en cuenta que en el momento de la sesión experimental no tenían infecciones de tracto urinario activas, no se espera que nuestros resultados puedan estar confundidos por estos motivos. Como lo describen Baranowski et al (140,141) hay casos positivos para EtS y negativos para EtG por lo que la determinación conjunta de ambos biomarcadores puede ser más útil.

9.5 Efectos subjetivos

9.5.1 Cambios en la EAV embriaguez “borrachera”

En general se observó que los efectos subjetivos del alcohol aumentan con la dosis administrada (EAV embriagado y BAES estimulación). Para la

DISCUSIÓN

BAES de sedación se observó la misma tendencia, pero solo en las mujeres. Al comparar ambos géneros, tal y como se esperaba, las mujeres presentaron mayores efectos subjetivos del alcohol medidos con la EAV embriagado y la BAES de sedación.

En la introducción de este trabajo de tesis doctoral se ha mencionado la elevada prevalencia del consumo de alcohol en nuestra sociedad. La información sobre las cantidades reales de consumo de alcohol se puede recopilar mediante diversos cuestionarios diseñados específicamente. Sin embargo, todos ellos dependen de los autoinformes aportados por los sujetos que pueden estar sesgados ya que la información sería dependiente de la memoria y la minimización o maximización del consumo por lo que a menudo son poco fiables (69). Uno de los cuestionarios utilizados para la identificación de trastornos por consumo de alcohol es el test (AUDIT), que se utilizó como cribaje de los voluntarios para ser seleccionados para el estudio. Para ser incluidos los voluntarios debían tener una puntuación inferior a 13. Se tuvieron en cuenta criterios de corrección ya que puntuaciones ≥ 13 requirieron entrevista psiquiátrica para descartar dependencia al alcohol, si bien algunos autores mencionan un puntaje de más de 13 en el caso de las mujeres y de 15 en los hombres como indicativos de una probable dependencia. (142)

Los sujetos puntuaron en las escalas EAV (Escala Analógica Visual) que medían la sensación de embriaguez “borracho” en diferentes tiempos de la sesión experimental (momento real), previamente a la sesión experimental (momento predicho) y a las 24 horas de la sesión experimental (recordatorio 24h). En general, los resultados que se obtuvieron con la EAV de embriaguez (“borrachera”) son congruentes con la idea extendida de que, a mayor dosis de alcohol, mayor sensación de borrachera. Esta premisa se cumplió tanto en hombres como en mujeres. Se observaron diferencias en la E_{\max} entre géneros para todas las dosis de

DISCUSIÓN

alcohol, puntuando las mujeres más que los hombres, siendo esta diferencia significativa para las dosis de 40 g.

Es de destacar que cuando comparamos la borrachera en los tres periodos (predicción, real, y recordatorio 24h) entre hombres y mujeres encontramos diferencias estadísticamente significativas (prueba de Wilcoxon: $Z = 2,71$; $p = 0,004$) para la embriaguez real con la dosis de 40 g. En este caso, los valores de la EAV entre los hombres (mediana=61; media=62,6; DE=14,8) superaron claramente los valores de las mujeres (mediana=30; media=35,1; DE=14,8). Este hecho va en contra de lo esperado, a pesar de que las mujeres mostraron un BAC más alto y podría explicarse por el hecho de que las participantes en la dosis de 40 g tuvieran una mayor tolerancia al alcohol. Con la dosis de 40g las mujeres tenían un consumo previo superior de alcohol que los hombres de $1,61 \pm 0,32$ UBE/día vs. $1,34 \pm 0,55$ UBE/día respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre géneros para el resto de las dosis y periodos probablemente debido a una alta variabilidad en la tolerancia al alcohol de los distintos sujetos (para evitar este hecho todos los sujetos deberían haber tomado todas las dosis).

9.5.2 Cuestionario de Identificación de dosis

Al final de la sesión, se utilizó el cuestionario de identificación de la dosis, para ver la coincidencia en la impresión que habían tenido los voluntarios sobre la dosis recibida y la dosis real. En 21 mujeres, 7 por cada dosis, se observó coincidencia en 4 casos para las dosis de 20g, 4 para la dosis de 40g y 1 en la de 60g, lo que resulta en un acierto en el 42.9% de los casos, con un coeficiente Cohen's Kappa de: 0.143, lo que sugiere una concordancia deficiente (143).

Con respecto a los hombres, en 24 voluntarios, 8 para cada dosis, se observó que coincidieron 3 casos para la dosis de 20g, 3 para la dosis de 40g, 3 para la dosis de 60g y 6 para la dosis de 80g, lo que resulta en un acierto en el 50% de los casos, con un coeficiente Cohen's Kappa de: 0.25, lo que sugiere una concordancia ligera.

9.5.3 Cambios en los efectos bifásicos del alcohol (BAES)

Esta escala permite evaluar los efectos subjetivos del alcohol a lo largo del tiempo, mientras ascienden y descienden sus concentraciones, detectando efectos estimulantes en la fase de ascenso de las concentraciones y efectos (sedantes en la fase de descenso principalmente. En general, los resultados demuestran que, a mayor dosis, mayor E_{max} en la subescala de estimulación, siendo las E_{max} superiores en los efectos estimulantes en las mujeres con las dosis de 60 g y en los hombres con la dosis de 80 g. Llama la atención que la t_{max} fue más tardía según se incrementaba la dosis de alcohol en ambos géneros. No obstante, las diferencias entre géneros no fueron significativas.

En la E_{max} de la subescala de sedación se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos géneros para la dosis de 60 g. En las mujeres según se incrementó la dosis, la E_{max} fue mayor, sin

DISCUSIÓN

embargo, en los hombres no tuvo relación con la dosis. En hombres para dosis altas de 80 g la E_{max} fue menor que con los 40 g. La mayor tolerancia al alcohol de los individuos que tomaron 80 g podría explicar estos resultados. El curso temporal de las puntuaciones de BAES fue similar en ambos géneros, con puntuaciones ligeramente superiores en las mujeres en el efecto sedante.

En nuestro estudio se superponen los efectos estimulantes y sedantes durante la fase ascendente de las concentraciones mientras que en la fase descendente predominan los efectos sedantes. En otro estudio se observó que los efectos estimulantes se presentaban previamente a los efectos sedantes, en un grupo de adolescentes (144). Debido a que los efectos estimulantes surgen antes que los efectos sedantes durante una sesión de consumo de alcohol, los intentos de mantener o mejorar un cierto grado de efecto estimulante durante una sesión de consumo de alcohol pueden ser la causa de la mayor cantidad de alcohol consumido en cada ocasión para algunas personas.

Una de las razones para que se puntúe más en la escala estimulación del BAES que en la escala sedación es que la primera se ve más afectada por las expectativas de consumo que pueden generar las distintas dosis de alcohol dentro del entorno controlado como lo era la unidad de ensayos clínicos. En estudios similares se observó que con dosis bajas se produjeron ambos efectos subjetivos de tipo estimulante y sedante durante el periodo ascendente de la curva dosis-respuesta (30 y 60 min después de la ingestión), y sólo efectos de tipo sedante durante la fase descendente (90 y 180 min.). En nuestro caso los efectos estimulantes inician durante los primeros 30 minutos, para todas las dosis y se mantienen hasta los 60 minutos exceptuando la dosis de 20 g, mientras que en la fase descendente de las concentraciones los efectos sedantes se inician a partir de los 90 minutos, lo que coincide con los hallazgos de otros estudios (97). Los efectos estimulantes del

alcohol se consideran positivos y a menudo provocan un mayor consumo (145) presentándose antes que los efectos sedantes del alcohol, que a menudo se consideran negativos (146), y pueden facilitar la interrupción del consumo. Las diferencias interindividuales en la respuesta bifásica al consumo de alcohol pueden estar relacionadas con la diferente tolerancia y expectativas de los sujetos participantes.

9.5.4 Efectos fisiológicos

A modo de resumen en las constantes vitales se observó una disminución en el E_{max} en todas las dosis en ambos géneros tanto para la PAS como para la PAD. En la PAS y en la PAD no se encontraron diferencias estadísticamente significativas por dosis ni por género para el C_{max} , t_{max} o AUC. Se hallaron cambios en la frecuencia cardíaca que consistieron en un aumento de la E_{max} con la dosis de alcohol, pese a ello las diferencias fueron estadísticamente significativas solo para los hombres. Los efectos iniciales sobre la frecuencia cardíaca y la presión arterial detectados son concordantes con estudios anteriores que mostraron un aumento de la frecuencia cardíaca y una disminución de la presión arterial diastólica después de la ingesta de 0,5 mL/kg a 1,0 g/kg de etanol (147,148) Cuando se realizó la comparación por dosis en la FC las diferencias se encontraron entre las dosis de 20-80 g, 40-80 g, 60-80 g. Finalmente en relación a la T° se encontraron pequeñas variaciones que fueron estadísticamente significativas en los hombres. Al realizar el análisis estadístico comparativo de las diferentes dosis para la variable temperatura, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las comparaciones entre 20 vs 40 g y 40 vs 60 g. Estas diferencias, a favor de más temperatura con mayor dosis se explicarían por la vasodilatación, sensación de calor, flushing facial, y aumento de la frecuencia rdiaca que produce el alcohol.

9.6 Fortalezas y limitaciones

Fortalezas

Este estudio confirma la hipótesis generada con variables secundarias de un estudio predecesor realizado en nuestro centro (98) solo en hombres, en el que se propuso una tendencia no lineal en la formación de varios metabolitos no oxidativos del alcohol en relación con la dosis. No se ha encontrado otro estudio que evalúe este aspecto en ambos géneros y en un rango de dosis tan amplio, que cubre desde un consumo moderado en el marco de un patrón dietético hasta dosis que generan una intoxicación etílica aguda y pueden cumplir criterios de patrón de consumo de alcohol en *atración-binge drinking*.

Se pudieron evaluar los efectos subjetivos del alcohol en adultos jóvenes de ambos géneros en tres periodos diferentes y compararlos entre ellos. Estos periodos incluyeron la medición antes de las sesiones (expectativa), los efectos durante la sesión experimental (efectos reales) y el recuerdo del efecto medido a las 24 horas de la administración. Los estudios que comparan las expectativas con los efectos reales no lo han hecho tampoco en un rango de dosis tan amplio.

Limitaciones

En primer lugar, el diseño del estudio constituye una limitación tanto para las comparaciones entre dosis, al no tratarse de los mismos sujetos, como para la medición de las variables subjetivas, al no tener grupo placebo. No fue un diseño doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, ni cruzado. Los sujetos que más alcohol consumían se asignaron a los grupos de mayor dosis de alcohol para asegurar que las dosis fueran bien toleradas y este hecho podría haber contribuido a sesgar las comparaciones entre dosis y entre géneros para los efectos subjetivos. Sin

DISCUSIÓN

embargo, al ser las concentraciones la variable principal se considera que el diseño es válido para cumplir con su principal objetivo.

Aunque nuestro estudio tiene una n mayor que estudios previos que comparan ambos géneros, el tamaño de la muestra continúa siendo reducido. Además, no existió un grupo femenino para la dosis de 80 g, en este caso por razones de seguridad.

Por razones presupuestarias no se pudieron analizar otras matrices biológicas diferentes de las descritas como son el pelo y la saliva, que hubieran complementado los datos aportados. Otra limitación es que para los efectos subjetivos, no se obtuvo la expectativa de los efectos y la medición a las 24h con las dosis de 20 g en los hombres por lo que la comparación de entre géneros para estas variables no se pudo realizar con la dosis más baja del estudio.

El estudio se ha realizado con dosis únicas de alcohol en voluntarios sanos. Se desconoce qué resultados se habrían obtenido a dosis múltiples y en sujetos con un consumo de riesgo o en situación de deshabitación alcohólica, por lo que los resultados no son extrapolables a estos casos.

9.7 Futuros estudios

Futuros estudios podrían estudiar la relación entre la dosis de alcohol y la formación de los distintos biomarcadores administrando varias dosis de alcohol en lugar una dosis única, a lo largo de 2 horas, simulando un patrón de consumo en atracón o *binge drinking*. Así se podría determinar el perfil y los parámetros farmacocinéticos de los biomarcadores no oxidativos con este patrón de consumo, y comprobar que también puede ser más perjudicial en el caso de las mujeres.

DISCUSIÓN

10 CONCLUSIONES

10.1 Después de la administración de alcohol a dosis bajas, moderadas y altas en un grupo de sujetos adultos jóvenes se observó:

10.1.1 Un aumento desproporcionado de las concentraciones de alcohol en relación a las dosis administradas, que sugiere la presencia de una cinética no lineal. Este fenómeno es conocido, pero no se había descrito en un mismo estudio como el presente que incluye dosis de entre 20 a 80g de alcohol a dosis única.

10.1.2 Las cocentraciones de alcohol fueron superiores en las mujeres que en los hombres cuando se administraron dosis idénticas de alcohol en el rango de 20-60g de alcohol. Las diferencias en la distribución y metabolismo pueden explicar estos resultados.

10.2 Después de administrar alcohol a dosis bajas, moderadas y altas se aprecia que la tasa de formación de los biomarcadores no oxidativos del alcohol no sigue una tendencia lineal con respecto a las concentraciones en magnitud (AUC).

10.2.1 Las concentraciones totales de EtG, EtS y la suma de los FAEEs no sigue una relación lineal con la dosis de alcohol administrada. Este hecho se podría explicar por la saturación de la vía principal de metabolismo del etanol y mayor disponibilidad de sustrato para las rutas metabólicas alternativas.

10.2.2 Las concentraciones de estos biomarcadores no oxidativos del alcohol fueron superiores en mujeres respecto a la dosis equivalente en hombres.

CONCLUSIONES

- 10.2.3 Las diferentes tasas de eliminación de los metabolitos no oxidativos del alcohol permiten detectar el consumo habitual de alcohol una amplia gama de plazos temporales para las dosis bajas, que van desde horas hasta días después del cese del consumo tras una dosis experimental. No se detectaron concentraciones de EtG y EtS en plasma tras 20 horas desde la administración aguda de alcohol. En orina los metabolitos EtG y EtS ya no se detectaron después de 48 horas tras la administración aguda de alcohol.
- 10.3** En general se observó que los efectos subjetivos del alcohol aumentaron con la dosis administrada.
- 10.3.1 La sensación de borrachera y sedación (EAV embriagado y BAES de estimulación) aumentaron con la dosis administrada. Para la BAES de sedación se observó la misma tendencia, pero solo en las mujeres. Una parte de las diferencias en la sensación de embriagado-borracho se pueden explicar por la variabilidad entre sujetos.
- 10.3.2 Respecto a los parámetros cardiovasculares, la frecuencia cardíaca máxima aumentó de forma significativa en relación con la dosis administrada, pero este aumento sólo se observó en los hombres.
- 10.3.3 Al comparar ambos géneros, tal y como se esperaba, las mujeres presentaron mayores efectos subjetivos del alcohol medidos con la EAV embriagado y la BAES de sedación.

11 ANEXOS

Durante el desarrollo de esta tesis doctoral, fui beneficiario de un contrato Rio Hortega financiado por el Fondo de Investigación sanitaria, Instituto de salud Carlos III (ISCIII) CM17/00024. A la fecha se han presentado diversas comunicaciones en congresos nacionales e internacionales en los que se han descrito los resultados preliminares de este estudio.

- Julián Andrés Mateus, Clara Pérez-Maña, Esther Papaseit, Esther Menoyo, Marta Pérez, Soraya Martín, Mitona Pujadas, Francina Fonseca, Marta Torrens, Magí Farré. Comparison of effects and concentrations at different doses of alcohol. XXIX Congreso de la Sociedad Española de Farmacología Clínica. Barcelona, 19–21 octubre 2016. Abstract Book page: 51 CP83. volume 119 /supplement 1" Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.
- Fonseca F, Andrés Mateus J, Pérez Mañà C, Papasseit E, Farré A, Menoyo E, Pérez M, Martín S, Pujadas M, de la Torre R, Torrens M, Farré M. Detection of ethylglucuronide and ethylsulfate in urine after acute administration of different doses of alcohol. CPDD 79th Annual Scientific Meeting. Montreal, Canada. 17-22/VI/2017. Abstract book page: 104.
- Julian Mateus Rodriguez, Clara Perez Maña, Marcos Pestarino, Esther Papaseit, Mitona Pujadas, Mohamed Ezzeldin, Francina Fonseca, Marta Torrens, Rafael De la Torre, Magi Farre. Fatty acid ethyl ester concentrations after administration of different doses of ethanol at the 13th Congress of the European Association for

Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT) Prague from June 24th to June 27th, 2017. Abstract Book e64 Volume 39 Number 8S Clinical Therapeutics.

- J. Mateus, P. Diaz-Pellicer, C. Pérez-Mañá, K. Langorh, F. Fonseca, M. Torrens, M. Farré, R. de la Torre. Comparison of dose dependent subjective alcohol intoxication effects (predicted, real and recalled) in healthy volunteers t the 31st ECNP Congress, Barcelona, Spain. 6-9 October 2018.

12 BIBLIOGRAFÍA

1. Gea A, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Garcia-Lopez M, Beunza JJ, Estruch R, et al. Mediterranean alcohol-drinking pattern and mortality in the SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) Project: a prospective cohort study. *Br J Nutr* [Internet]. 2014 May 28 [cited 2019 Jul 9];111(10):1871–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24480368>
2. Ministerio de Sanidad C y BS-PPN sobre D-E y estudios. ENCUESTA SOBRE ALCOHOL Y OTRAS DROGAS EN ESPAÑA (EDADES). 2017.
3. Ministerio de Sanidad C y BS-PPN sobre D-E y estudios. Encuesta sobre uso de drogas en Enseñanzas Secundarias en España (ESTUDES). 2018.
4. WHO | Global status report on alcohol and health 2018. WHO [Internet]. 2018 [cited 2019 Jul 9]; Available from: https://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/
5. GBD 2016 Alcohol Collaborators MG, Fullman N, Hawley C, Arian N, Zimsen SRM, Tymeson HD, et al. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2018 Sep 22 [cited 2019 Jun 19];392(10152):1015–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30146330>
6. Silla Stoel M, Rosón Hernández B. Evaluación del consumo de alcohol y diagnóstico de patrón de consumo. *Trastor Adict* [Internet]. 2009 Jul 1 [cited 2019 Jul 9];11(3):191–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1575097309724110>
7. WHO Global Status Report on Alcohol 2004 [Internet]. 2004 [cited 2019 Jul 9]. Available from: https://www.who.int/substance_abuse/publications/global_status_report_2004_overview.pdf
8. Costardi JVV, Nampo RAT, Silva GL, Ribeiro MAF, Stella HJ, Stella MB, et al. A review on alcohol: from the central action mechanism to chemical dependency. *Rev Assoc Med Bras* [Internet]. 2015 Aug [cited 2019 Jul 7];61(4):381–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26466222>
9. Charlton ME, Sweetnam PM, Fitzgerald LW, Terwilliger RZ, Nestler

BIBLIOGRAFIA

- EJ, Duman RS. Chronic Ethanol Administration Regulates the Expression of GABAA Receptor $\alpha 1$ and $\alpha 5$ Subunits in the Ventral Tegmental Area and Hippocampus. *J Neurochem* [Internet]. 2002 Nov 18 [cited 2019 Jul 7];68(1):121–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8978717>
10. Valenzuela CF. Alcohol and neurotransmitter interactions. *Alcohol Health Res World* [Internet]. 1997 [cited 2019 Jul 9];21(2):144–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15704351>
 11. Boileau I, Assaad J-M, Pihl RO, Benkelfat C, Leyton M, Diksic M, et al. Alcohol promotes dopamine release in the human nucleus accumbens. *Synapse* [Internet]. 2003 Sep 15 [cited 2019 Jul 7];49(4):226–31. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/syn.10226>
 12. Mumenthaler MS, Taylor JL, O'Hara R, Fisch HU, Yesavage JA. Effects of menstrual cycle and female sex steroids on ethanol pharmacokinetics. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 1999 Feb [cited 2019 Jul 6];23(2):250–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10069553>
 13. Gutjahr E, Gmel G, Rehm J. Relation between Average Alcohol Consumption and Disease: An Overview. *Eur Addict Res* [Internet]. 2001 Aug [cited 2019 Jul 9];7(3):117–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11509842>
 14. Holman CDJ, English DR. An improved aetiologic fraction for alcohol-caused mortality. *Aust J Public Health* [Internet]. 2010 Feb 12 [cited 2019 Jul 9];19(2):138–41. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1753-6405.1995.tb00363.x>
 15. Alcohol y atención primaria de la salud [Internet]. 2008 [cited 2019 Jul 9]. Available from: www.paho.org
 16. Diagnóstico M, Estadístico Y, Mentales DT. ACTUALIZACIÓN Suplemento del DSM-5 ® septiembre 2016 [Internet]. 2017 [cited 2019 Jul 9]. Available from: <http://dsm.psychiatryonline.org/>.
 17. Alcoholismo E. MONOGRAFÍA SOBRE [Internet]. [cited 2019 Jul 9]. Available from: www.socidrogalcohol.org
 18. Mumenthaler MS, Taylor JL, O'Hara R, Yesavage JA. Gender differences in moderate drinking effects. *Alcohol Res Health* [Internet]. 1999 [cited 2019 Jul 9];23(1):55–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10890798>

BIBLIOGRAFIA

19. Baraona E, Abittan CS, Dohmen K, Moretti M, Pozzato G, Chayes ZW, et al. Gender differences in pharmacokinetics of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2001 Apr [cited 2019 Jun 25];25(4):502–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11329488>
20. Frezza M, di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High Blood Alcohol Levels in Women. *N Engl J Med* [Internet]. 1990 Jan 11 [cited 2019 Jun 25];322(2):95–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2248624>
21. Ward RJ, Coutelle C. Women and alcohol susceptibility: could differences in alcohol metabolism predispose women to alcohol-related diseases? *Arch Womens Ment Health* [Internet]. 2003 Nov 1 [cited 2019 Jul 9];6(4):231–8. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00737-003-0015-7>
22. Soderberg BL, Sicinska ET, Blodget E, Cluette-Brown JE, Suter PM, Schuppisser T, et al. Preanalytical variables affecting the quantification of fatty acid ethyl esters in plasma and serum samples. *Clin Chem*. 1999;45(12):2183–90.
23. Best CA, Sarkola T, Peter Eriksson CJ, Cluette-Brown JE, Laposata M. Increased Plasma Fatty Acid Ethyl Ester Levels Following Inhibition of Oxidative Metabolism of Ethanol by 4-Methylpyrazole Treatment in Human Subjects. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2006 Jul [cited 2019 Jun 24];30(7):1126–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16792559>
24. Wurst FM, Wiesbeck GA, Metzger JW, Weinmann W. On sensitivity, specificity, and the influence of various parameters on ethyl glucuronide levels in urine--results from the WHO/ISBRA study. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2004 Aug [cited 2019 Jul 9];28(8):1220–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15318121>
25. Gareri J, Rao C, Koren G. Examination of sex differences in fatty acid ethyl ester and ethyl glucuronide hair analysis. *Drug Test Anal* [Internet]. 2014 Jun [cited 2019 Jul 9];6(S1):30–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24817046>
26. Dettling A, Preiss A, Skopp G, Haffner H-T. The influence of the luteal and follicular phases on major pharmacokinetic parameters of blood and breath alcohol kinetics in women. *Alcohol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2019 Jul 9];44(4):315–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832910000297>

BIBLIOGRAFIA

27. Jones MK, Jones BM. Ethanol metabolism in women taking oral contraceptives. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. [cited 2019 Jul 6];8(1):24–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6370017>
28. Sarkola T, Iles MR, Kohlenberg-Mueller K, Eriksson CJP. Ethanol, acetaldehyde, acetate, and lactate levels after alcohol intake in white men and women: effect of 4-methylpyrazole. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2002 Feb [cited 2019 Jul 6];26(2):239–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11964564>
29. King AR, Hunter PJ. Alcohol elimination at low blood concentrations among women taking combined oral contraceptives. *J Stud Alcohol* [Internet]. 2005 Nov [cited 2019 Jul 6];66(6):738–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16459935>
30. Johnson RD, Horowitz M, Maddox AF, Wishart JM, Shearman DJ. Cigarette smoking and rate of gastric emptying: effect on alcohol absorption. *BMJ* [Internet]. 1991 Jan 5 [cited 2019 Jul 9];302(6767):20–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1991182>
31. Flórez G, Saiz PA, García-Portilla P, De Cos FJ, Dapía S, Álvarez S, et al. Predictors of Posttreatment Drinking Outcomes in Patients with Alcohol Dependence. *Eur Addict Res* [Internet]. 2015 [cited 2019 Jul 9];21(1):19–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25358471>
32. Morfin JP, Kulig C, Everson G, Beresford T. Controlling for serum albumin level improves the correlation between serum fatty acid ethyl esters and blood ethanol level. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31(2):265–8.
33. Soderberg BL, Sicinska ET, Blodget E, Cluette-Brown JE, Suter PM, Schuppisser T, et al. Preanalytical variables affecting the quantification of fatty acid ethyl esters in plasma and serum samples. *Clin Chem* [Internet]. 1999 Dec [cited 2019 Jun 24];45(12):2183–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10585351>
34. Johnson BA, Seneviratne C. Alcohol-medical drug interactions [Internet]. 1st ed. Vol. 125, *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2014. 543–559 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00031-8>
35. Dinis-Oliveira RJ. Oxidative and Non-Oxidative Metabolomics of

BIBLIOGRAFIA

- Ethanol. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2016 [cited 2018 Aug 10];17(4):327–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26805730>
36. Norberg A, Jones AW, Hahn RG, Gabrielsson JL. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: research and forensic applications. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 2003 [cited 2019 Jul 9];42(1):1–31. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-200342010-00001>
 37. Osier M V., Pakstis AJ, Soodyall H, Comas D, Goldman D, Odunsi A, et al. A Global Perspective on Genetic Variation at the ADH Genes Reveals Unusual Patterns of Linkage Disequilibrium and Diversity. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2002 Jul [cited 2019 Jul 9];71(1):84–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12050823>
 38. Edenberg HJ. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health* [Internet]. 2007 [cited 2019 Jul 9];30(1):5–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17718394>
 39. KOTAGIRI S, EDENBERG HJ. Regulation of Human Alcohol Dehydrogenase Gene *ADH7*: Importance of an AP-1 Site. *DNA Cell Biol* [Internet]. 1998 Jul [cited 2019 Jul 9];17(7):583–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9703017>
 40. Lee S-L, Chau G-Y, Yao C-T, Wu C-W, Yin S-J. Functional Assessment of Human Alcohol Dehydrogenase Family in Ethanol Metabolism: Significance of First-Pass Metabolism. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2006 Jul [cited 2019 Jul 9];30(7):1132–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16792560>
 41. Dan L, Laposata M. Ethyl palmitate and ethyl oleate are the predominant fatty acid ethyl esters in the blood after ethanol ingestion and their synthesis is differentially influenced by the extracellular concentrations of their corresponding fatty acids. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997;21(2):286–92.
 42. Lewis SJ, Zuccolo L, Davey Smith G, Macleod J, Rodriguez S, Draper ES, et al. Fetal Alcohol Exposure and IQ at Age 8: Evidence from a Population-Based Birth-Cohort Study. Thornton-Wells TA, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Nov 14 [cited 2019 Jul 9];7(11):e49407. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0049407>

BIBLIOGRAFIA

43. Adinolfi A, Adinolfi M, Hopkinson DA. Immunological and biochemical characterization of the human alcohol dehydrogenase chi-ADH isozyme. *Ann Hum Genet* [Internet]. 1984 [cited 2019 Jul 9];48(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6424546>
44. Gugler R. H2-antagonists and alcohol. Do they interact? *Drug Saf* [Internet]. 1994 Apr [cited 2019 Jul 9];10(4):271–80. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/00002018-199410040-00001>
45. Heit C, Dong H, Chen Y, Thompson DC, Deitrich RA, Vasiliou VK. The Role of CYP2E1 in Alcohol Metabolism and Sensitivity in the Central Nervous System. In: *Sub-cellular biochemistry* [Internet]. 2013 [cited 2019 Jul 9]. p. 235–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23400924>
46. Osna NA, Donohue TM. CYP2E1-Catalyzed Alcohol Metabolism: Role of Oxidant Generation in Interferon Signaling, Antigen Presentation and Autophagy. In: *Sub-cellular biochemistry* [Internet]. 2013 [cited 2019 Jul 9]. p. 177–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23400922>
47. Salmela KS, Kessova IG, Tsyrllov IB, Lieber CS. Respective roles of human cytochrome P-450E1, 1A2, and 3A4 in the hepatic microsomal ethanol oxidizing system. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 1998 Dec [cited 2019 Jul 9];22(9):2125–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9884161>
48. Lytton SD, Helander A, Zhang-Gouillon ZQ, Stokkeland K, Bordone R, Aricò S, et al. Autoantibodies against cytochromes P-450E1 and P-4503A in alcoholics. *Mol Pharmacol* [Internet]. 1999 Feb 1 [cited 2019 Jul 9];55(2):223–33. Available from: <http://molpharm.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/mol.55.2.223>
49. Feierman DE, Melinkov Z, Nanji AA. Induction of CYP3A by ethanol in multiple in vitro and in vivo models. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2003 Jun [cited 2019 Jul 9];27(6):981–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1097/01.ALC.0000071738.53337.F4>
50. Pizon AF, Becker CE, Bikin D. The clinical significance of variations in ethanol toxicokinetics. *J Med Toxicol* [Internet]. 2007 Jun [cited 2019 Jul 9];3(2):63–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18072163>
51. Jones AW. Role of CYP2E1 in the metabolism of ethanol in patients with liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2010

BIBLIOGRAFIA

- Mar 10 [cited 2019 Jul 9];45(3):382–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19900053>
52. Góth L, Páy A. Genetic heterogeneity in acatalasemia. Electrophoresis [Internet]. 1996 Aug [cited 2019 Jul 9];17(8):1302–3. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/elps.1150170805>
 53. Fernández-Real JM, Sanchis D, Ricart W, Casamitjana R, Balada F, Remesar X, et al. Plasma oestrone-fatty acid ester levels are correlated with body fat mass in humans. Clin Endocrinol (Oxf). 1999 Feb;50(2):253–60.
 54. Secretan B, Straif K, Baan R, Grosse Y, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens--Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. Lancet Oncol [Internet]. 2009 Nov [cited 2019 Jul 9];10(11):1033–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19891056>
 55. Song B-J, Abdelmegeed MA, Yoo S-H, Kim B-J, Jo SA, Jo I, et al. Post-translational modifications of mitochondrial aldehyde dehydrogenase and biomedical implications. J Proteomics [Internet]. 2011 Nov 18 [cited 2019 Jul 9];74(12):2691–702. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21609791>
 56. Impraim C, Wang G, Yoshida A. Structural mutation in a major human aldehyde dehydrogenase gene results in loss of enzyme activity. Am J Hum Genet [Internet]. 1982 Nov [cited 2019 Jul 9];34(6):837–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7180842>
 57. Nuutinen HU. Activities of ethanol-metabolizing enzymes in liver diseases. Scand J Gastroenterol [Internet]. 1986 Aug [cited 2019 Jul 9];21(6):678–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3529359>
 58. Vasiliou V, Malamas M, Marselos M. The mechanism of alcohol intolerance produced by various therapeutic agents. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh) [Internet]. 1986 May [cited 2019 Jul 9];58(5):305–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2943133>
 59. Heier C, Xie H, Zimmermann R. Nonoxidative ethanol metabolism in humans—from biomarkers to bioactive lipids. IUBMB Life. 2016;68(12):916–23.
 60. Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? Alcohol Res Health [Internet]. 2006 [cited 2019 Jul 9];29(4):245–54.

BIBLIOGRAFIA

Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17718403>

61. Maenhout TM, De Buyzere ML, Delanghe JR. Non-oxidative ethanol metabolites as a measure of alcohol intake. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2013;415:322–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.11.014>
62. Torrente MP, Freeman WM, Vrana KE. Protein biomarkers of alcohol abuse. *Expert Rev Proteomics* [Internet]. 2012 Aug 9 [cited 2019 Jun 19];9(4):425–36. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/epr.12.38>
63. Joya X, Friguls B, Ortigosa S, Papaseit E, Martínez SE, Manich A, et al. Determination of maternal-fetal biomarkers of prenatal exposure to ethanol: A review. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2012 Oct [cited 2019 Jul 1];69:209–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300909>
64. Pragst F, Rothe M, Moench B, Hastedt M, Herre S, Simmert D. Combined use of fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide in hair for diagnosis of alcohol abuse: Interpretation and advantages. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2010 Mar 20 [cited 2019 Jul 9];196(1–3):101–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20061103>
65. Hastedt M, Krumbiegel F, Gapert R, Tsokos M, Hartwig S. Fatty acid ethyl esters (FAEEs) as markers for alcohol in meconium: method validation and implementation of a screening program for prenatal drug exposure. *Forensic Sci Med Pathol* [Internet]. 2013 Sep 5 [cited 2019 May 25];9(3):287–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23124415>
66. Cabarcos P, Álvarez I, Tabernero MJ, Bermejo AM. Determination of direct alcohol markers: A review. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(17):4907–25.
67. Dahl H, Hammarberg A, Franck J, Helander A. Urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate testing for recent drinking in alcohol-dependent outpatients treated with acamprosate or placebo. *Alcohol Alcohol*. 2011;46(5):553–7.
68. Martins Ferreira L, Binz T, Yegles M. The influence of ethanol containing cosmetics on ethyl glucuronide concentration in hair. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2012;218(1–3):123–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.10.015>
69. Niemelä O. Biomarker-based approaches for assessing alcohol

BIBLIOGRAFIA

- use disorders. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(2).
70. Amini M, Runyon BA. Alcoholic hepatitis 2010: a clinician's guide to diagnosis and therapy. *World J Gastroenterol*. 2010 Oct;16(39):4905–12.
 71. Doyle KM, Cluette-Brown JE, Dube DM, Bernhardt TG, Morse CR, Laposata M. Fatty acid ethyl esters in the blood as markers for ethanol intake. *J Am Med Assoc*. 1996;276(14):1152–6.
 72. Halter CC, Dresen S, Auwaerter V, Wurst FM, Weinmann W. Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake. *Int J Legal Med* [Internet]. 2008 Mar 9 [cited 2019 Jun 19];122(2):123–8. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00414-007-0180-8>
 73. Hoiseth G, Bernard JP, Stephanson N, Normann PT, Christophersen AS, Morland J, et al. Comparison between the urinary alcohol markers EtG, EtS, and GTOL/5-HIAA in a controlled drinking experiment. *Alcohol Alcohol* [Internet]. 2008 Jan 23 [cited 2019 Jul 9];43(2):187–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18230699>
 74. Albermann ME, Musshoff F, Doberentz E, Heese P, Banger M, Madea B. Preliminary investigations on ethyl glucuronide and ethyl sulfate cutoffs for detecting alcohol consumption on the basis of an ingestion experiment and on data from withdrawal treatment. *Int J Legal Med*. 2012;126(5):757–64.
 75. Lostia AM, Vicente JL, Cowan DA. Measurement of ethyl glucuronide, ethyl sulphate and their ratio in the urine and serum of healthy volunteers after two doses of alcohol. *Alcohol Alcohol* [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2019 Jul 9];48(1):74–82. Available from: <https://academic.oup.com/alcalc/article-lookup/doi/10.1093/alcalc/ags108>
 76. Helander A, Péter O, Zheng Y. Monitoring of the Alcohol Biomarkers PEth, CDT and EtG/EtS in an Outpatient Treatment Setting. *Alcohol Alcohol*. 2012 Sep;47(5):552–7.
 77. Holford NHG. Clinical Pharmacokinetics of Ethanol. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 1987 Nov [cited 2019 Jul 9];13(5):273–92. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-198713050-00001>
 78. Pérez-Mañá C, Farré M, Pujadas M, Mustata C, Menoyo E, Pastor A, et al. Ethanol induces hydroxytyrosol formation in humans.

BIBLIOGRAFIA

- Pharmacol Res. 2015 May;95–96:27–33.
79. Farré M, de la Torre R, Llorente M, Lamas X, Ugena B, Segura J, et al. Alcohol and cocaine interactions in humans. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1993 Sep [cited 2019 Jun 24];266(3):1364–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8371143>
 80. Farré M, de la Torre R, González ML, Terán MT, Roset PN, Menoyo E, et al. Cocaine and alcohol interactions in humans: neuroendocrine effects and cocaethylene metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1997 Oct [cited 2019 Jun 24];283(1):164–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9336321>
 81. Hernandez-Lopez C, Farré M, Roset PN, Menoyo E, Pizarro N, Ortuño J, et al. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy) and Alcohol Interactions in Humans: Psychomotor Performance, Subjective Effects, and Pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2002 Jan 1 [cited 2019 Jun 24];300(1):236–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11752122>
 82. Abanades S, Farré M, Barral D, Torrens M, Closas N, Langohr K, et al. Relative Abuse Liability of γ -Hydroxybutyric Acid, Flunitrazepam, and Ethanol in Club Drug Users. *J Clin Psychopharmacol* [Internet]. 2007 Dec [cited 2019 Jun 24];27(6):625–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18004131>
 83. de Sousa Fernandes Perna E, Papaseit E, Pérez-Mañá C, Mateus J, Theunissen E, Kuypers K, et al. Neurocognitive performance following acute mephedrone administration, with and without alcohol. *J Psychopharmacol* [Internet]. 2016 Dec 26 [cited 2019 Jun 25];30(12):1305–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27562197>
 84. Kalant H. Direct effects of ethanol on the nervous system. *Fed Proc* [Internet]. 1975 Sep [cited 2019 Jun 24];34(10):1930–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1098939>
 85. Rangno R, Kreeft J, Sitar D. Ethanol 'dose-dependent' elimination: Michaelis-Menten v classical kinetic analysis. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 1981 Nov [cited 2019 Jun 24];12(5):667–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7332732>
 86. Logue PE, Linnoila M, Wallman L, Erwin CW. Effects of Ethanol and Psychomotor Tests on State Anxiety: Interaction with Menstrual Cycle in Women. *Percept Mot Skills* [Internet]. 1981 Apr

BIBLIOGRAFIA

- 22 [cited 2019 Jun 24];52(2):643–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7255074>
87. Nuotto E, Mattila MJ, Seppälä T, Konno K. Coffee and caffeine and alcohol effects on psychomotor function. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 1982 Jan [cited 2019 Jun 24];31(1):68–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7053307>
88. Martin E, Moll W, Schmid P, Dettli L. The pharmacokinetics of alcohol in human breath, venous and arterial blood after oral ingestion. *Eur J Clin Pharmacol* [Internet]. 1984 [cited 2019 Jun 24];26(5):619–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6468479>
89. Camí J, de la Torre R, Garcia-Sevilla L, Ugena B, Knobel H, Segura J. Alcohol antagonism of hypercortisolism induced by naloxone. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 1988 Jun [cited 2019 Jun 24];43(6):599–604. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3378381>
90. Koskinen P, Virolainen J, Kupari M. Acute Alcohol Intake Decreases Short-Term Heart Rate Variability in Healthy Subjects. *Clin Sci* [Internet]. 1994 Aug 1 [cited 2019 Jun 26];87(2):225–30. Available from: <http://www.clinsci.org/cgi/doi/10.1042/cs0870225>
91. Blaha M, Aaslid R, Douville CM, Correra R, Newell DW. Cerebral blood flow and dynamic cerebral autoregulation during ethanol intoxication and hypercapnia. *J Clin Neurosci* [Internet]. 2003 Mar [cited 2019 Jun 24];10(2):195–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12637048>
92. Bottcher M, Beck O, Helander A. Evaluation of a new immunoassay for urinary ethyl glucuronide testing. *Alcohol Alcohol* [Internet]. 2007 Oct 8 [cited 2019 Jul 7];43(1):46–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942435>
93. Kulig CC, Beresford TP, Everson GT. Rapid, accurate, and sensitive fatty acid ethyl ester determination by gas chromatography-mass spectrometry. *J Lab Clin Med* [Internet]. 2006 Mar [cited 2019 Jul 7];147(3):133–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16503243>
94. Lamas X, Farré M, Llorente M, Camí J. Spanish version of the 49-item short form of the Addiction Research Center Inventory (ARCI). *Drug Alcohol Depend* [Internet]. 1994 Jun [cited 2019 Jun 24];35(3):203–9. Available from:

BIBLIOGRAFIA

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7956749>

95. Cami J, Farré M, Mas M, Roset PN, Poudevida S, Mas A, et al. Human pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"): psychomotor performance and subjective effects. *J Clin Psychopharmacol* [Internet]. 2000 Aug [cited 2019 Jun 24];20(4):455–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10917407>
96. González D, Torrens M, Farré M. Acute Effects of the Novel Psychoactive Drug 2C-B on Emotions. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015 [cited 2019 Jun 24];2015:1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26543863>
97. Martin CS, Earleywine M, Musty RE, Perrine MW, Swift RM. Development and validation of the Biphasic Alcohol Effects Scale. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 1993 Feb [cited 2019 Jun 24];17(1):140–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8452195>
98. Pérez-Mañá C, Farré M, Pastor A, Fonseca F, Torrens M, Menoyo E, et al. Non-Linear Formation of EtG and FAEEs after Controlled Administration of Low to Moderate Doses of Ethanol. *Alcohol Alcohol* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2019 Jun 15];52(5):587–94. Available from: <https://academic.oup.com/alcalc/article/52/5/587/3862033>
99. Wurst FM, Dresen S, Allen JP, Wiesbeck G, Graf M, Weinmann W. Ethyl sulphate: a direct ethanol metabolite reflecting recent alcohol consumption. *Addiction*. 2006 Feb;101(2):204–11.
100. Frezza M, di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. *N Engl J Med* [Internet]. 1990 Jan 11 [cited 2019 Jun 24];322(2):95–9. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199001113220205>
101. Shankar K, Ronis MJJ, Badger TM. Effects of pregnancy and nutritional status on alcohol metabolism. *Alcohol Res Health* [Internet]. 2007 [cited 2019 Jun 25];30(1):55–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17718402>
102. Fraser AG. Pharmacokinetic interactions between alcohol and other drugs. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 1997 Aug [cited 2019 Jun 25];33(2):79–90. Available from:

BIBLIOGRAFIA

<http://link.springer.com/10.2165/00003088-199733020-00001>

103. Erol A, Karpayak VM. Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences: Contemporary knowledge and future research considerations. *Drug Alcohol Depend* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2019 Jun 27];156:1–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26371405>
104. Ramchandani VA, Kwo PY, Li TK. Effect of food and food composition on alcohol elimination rates in healthy men and women. *J Clin Pharmacol* [Internet]. 2001 Dec [cited 2019 Jul 6];41(12):1345–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11762562>
105. Dettling A, Skopp G, Graw M, Haffner H-T. The influence of sex hormones on the elimination kinetics of ethanol. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2008 May 20 [cited 2019 Jul 6];177(2–3):85–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18079079>
106. Lammers SM, Mainzer DE, Breteler MH. Do alcohol pharmacokinetics in women vary due to the menstrual cycle? *Addiction* [Internet]. 1995 Jan [cited 2019 Jul 6];90(1):23–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7888975>
107. Corrêa CL, Oga S. Effects of the menstrual cycle of white women on ethanol toxicokinetics. *J Stud Alcohol* [Internet]. 2004 Mar [cited 2019 Jun 25];65(2):227–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15151354>
108. Jeavons CM, Zeiner AR. Effects of elevated female sex steroids on ethanol and acetaldehyde metabolism in humans. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. [cited 2019 Jul 6];8(4):352–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6091490>
109. Eriksson CJ, Fukunaga T, Sarkola T, Lindholm H, Ahola L. Estrogen-related acetaldehyde elevation in women during alcohol intoxication. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 1996 Oct [cited 2019 Jul 6];20(7):1192–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8904969>
110. Drinking Levels Defined | National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA) [Internet]. [cited 2019 Jun 20]. Available from: <https://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/moderate-binge-drinking>
111. Di Castelnuovo A, Costanzo S, Bagnardi V, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Alcohol Dosing and Total Mortality in Men and

BIBLIOGRAFIA

- Women. Arch Intern Med [Internet]. 2006 Dec 11 [cited 2019 Jul 6];166(22):2437. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17159008>
112. Ronksley PE, Brien SE, Turner BJ, Mukamal KJ, Ghali WA. Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. BMJ [Internet]. 2011 Feb 22 [cited 2019 Jul 6];342(feb22 1):d671–d671. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21343207>
 113. What's low-risk drinking? - Rethinking Drinking - NIAAA [Internet]. [cited 2019 Jun 20]. Available from: <https://www.rethinkingdrinking.niaaa.nih.gov/How-much-is-too-much/Is-your-drinking-pattern-risky/Whats-Low-Risk-Drinking.aspx>
 114. Lucey MR, Hill EM, Young JP, Demo-Dananberg L, Beresford TP. The influences of age and gender on blood ethanol concentrations in healthy humans. J Stud Alcohol [Internet]. 1999 Jan [cited 2019 Jun 25];60(1):103–10. Available from: <http://www.jsad.com/doi/10.15288/jsa.1999.60.103>
 115. Politi L, Leone F, Morini L, Poletti A. Bioanalytical procedures for determination of conjugates or fatty acid esters of ethanol as markers of ethanol consumption: A review. Anal Biochem [Internet]. 2007 Sep 1 [cited 2019 Jul 6];368(1):1–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17570333>
 116. Werner J, Saghir M, Fernandez-del Castillo C, Warshaw AL, Laposata M. Linkage of oxidative and nonoxidative ethanol metabolism in the pancreas and toxicity of nonoxidative ethanol metabolites for pancreatic acinar cells. Surgery [Internet]. 2001 Jun [cited 2019 Jul 6];129(6):736–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11391373>
 117. Behonick GS, Novak MJ, Nealley EW, Baskin SI. Toxicology update: the cardiotoxicity of the oxidative stress metabolites of catecholamines (aminochromes). J Appl Toxicol [Internet]. 2001 Dec [cited 2019 Jul 6];21 Suppl 1:S15-22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11920915>
 118. Manautou JE, Buss NJ, Carlson GP. Oxidative and non-oxidative metabolism of ethanol by the rabbit lung. Toxicol Lett [Internet]. 1992 Aug [cited 2019 Jul 6];62(1):93–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1509512>
 119. Werner J, Saghir M, Warshaw AL, Lewandrowski KB, Laposata M,

BIBLIOGRAFIA

- lozzo R V., et al. Alcoholic pancreatitis in rats: injury from nonoxidative metabolites of ethanol. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2002 Jul [cited 2019 Jul 6];283(1):G65–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12065293>
120. Wu H, Cai P, Clemens DL, Jerrells TR, Ansari GAS, Kaphalia BS. Metabolic basis of ethanol-induced cytotoxicity in recombinant HepG2 cells: Role of nonoxidative metabolism. *Toxicol Appl Pharmacol* [Internet]. 2006 Oct 15 [cited 2019 Jul 6];216(2):238–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16806343>
121. Chan DC, Pang J, Barrett PHR, Sullivan DR, Burnett JR, van Bockxmeer FM, et al. ω -3 Fatty Acid Ethyl Esters Diminish Postprandial Lipemia in Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Oct;101(10):3732–9.
122. Best CA, Laposata M. Fatty acid ethyl esters: Toxic non-oxidative metabolites of ethanol and markers of ethanol intake. *Front Biosci*. 2003;8:E202-E217 ST-Fatty acid ethyl esters: Toxic non.
123. Jatlow PI, Agro A, Wu R, Nadim H, Toll BA, Ralevski E, 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(7):2056–65.
124. Rosano TG, Lin J. Ethyl glucuronide excretion in humans following oral administration of and dermal exposure to ethanol. *J Anal Toxicol* [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2019 Jul 6];32(8):594–600. Available from: <https://academic.oup.com/jat/article-lookup/doi/10.1093/jat/32.8.594>
125. Jatlow PI, Agro A, Wu R, Nadim H, Toll BA, Ralevski E, 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* [Internet]. 2014 Jul [cited 2019 Jul 6];38(7):2056–65. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/acer.12407>
126. Heier C, Xie H, Zimmermann R. Nonoxidative ethanol metabolism in humans-from biomarkers to bioactive lipids. *IUBMB Life* [Internet]. 2016 Dec [cited 2018 Aug 10];68(12):916–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27714979>
127. Foti RS, Fisher MB. Assessment of UDP-glucuronosyltransferase catalyzed formation of ethyl glucuronide in human liver microsomes and recombinant UGTs. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2005 Oct 29

BIBLIOGRAFIA

- [cited 2019 Jul 6];153(2–3):109–16. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073804008084>
128. Wurst FM, Thon N, Yegles M, Schrück A, Preuss UW, Weinmann W. Ethanol Metabolites: Their Role in the Assessment of Alcohol Intake. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2015 Nov [cited 2019 Jun 30];39(11):2060–72. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26344403>
 129. Høiseth G, Bernard JP, Karinen R, Johnsen L, Helander A, Christophersen AS, et al. A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine: Applications to forensic toxicology. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2007 Oct 25 [cited 2019 Jun 30];172(2–3):119–24. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17306943>
 130. Høiseth G, Nordal K, Pettersen E, Mørland J. Prolonged urinary detection times of EtG and EtS in patients with decreased renal function. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012 Jul;36(7):1148–51.
 131. Høiseth G, Morini L, Poletini A, Christophersen A, Mørland J. Blood kinetics of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2009 Jul 1 [cited 2019 Jun 30];188(1–3):52–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19395207>
 132. Schneider H, Glatt H. Sulpho-conjugation of ethanol in humans in vivo and by individual sulphotransferase forms in vitro. *Biochem J*. 2004 Nov;383(Pt. 3):543–9.
 133. Høiseth G, Morini L, Poletini A, Christophersen A, Mørland J. Blood kinetics of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Forensic Sci Int*. 2009;188(1–3):52–6.
 134. Nanau RM, Neuman MG. Biomolecules and Biomarkers Used in Diagnosis of Alcohol Drinking and in Monitoring Therapeutic Interventions. *Biomolecules* [Internet]. 2015 Jun 29 [cited 2018 Aug 10];5(3):1339–85. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26131978>
 135. Dahl H, Stephanson N, Beck O, Helander A. Comparison of Urinary Excretion Characteristics of Ethanol and Ethyl Glucuronide. *J Anal Toxicol* [Internet]. 2002 May 1 [cited 2019 Jul 6];26(4):201–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12054359>
 136. Halter CC, Laengin A, Al-Ahmad A, Wurst FM, Weinmann W,

BIBLIOGRAFIA

- Kuemmerer K. Assessment of the stability of the ethanol metabolite ethyl sulfate in standardised degradation tests. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2009 Apr 15 [cited 2019 Jul 6];186(1–3):52–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19216039>
137. Baranowski S, Serr A, Thierauf A, Weinmann W, Grosse Perdekamp M, Wurst FM, et al. In vitro study of bacterial degradation of ethyl glucuronide and ethyl sulphate. *Int J Legal Med* [Internet]. 2008 Sep 24 [cited 2019 Jul 1];122(5):389–93. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00414-008-0229-3>
138. Helander A. Urinary Tract Infection: A Risk Factor for False-Negative Urinary Ethyl Glucuronide but Not Ethyl Sulfate in the Detection of Recent Alcohol Consumption. *Clin Chem* [Internet]. 2005 Jul 14 [cited 2019 Jul 6];51(9):1728–30. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2005.051565>
139. Helander A, Hagelberg CA, Beck O, Petrini B. Unreliable alcohol testing in a shipping safety programme. *Forensic Sci Int*. 2009;189(1–3):46–8.
140. Baranowski S, Serr A, Thierauf A, Weinmann W, Grosse Perdekamp M, Wurst FM, et al. In vitro study of bacterial degradation of ethyl glucuronide and ethyl sulphate. *Int J Legal Med* [Internet]. 2008 Sep 24 [cited 2019 Jul 6];122(5):389–93. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00414-008-0229-3>
141. Hernández Redondo A, Körber C, König S, Längin A, Al-Ahmad A, Weinmann W. Inhibition of bacterial degradation of EtG by collection as dried urine spots (DUS). *Anal Bioanal Chem*. 2012;402(7):2417–24.
142. Saunders JB, Aasland OG, Babor TF, de la Fuente JR, Grant M. Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO Collaborative Project on Early Detection of Persons with Harmful Alcohol Consumption--II. *Addiction* [Internet]. 1993 Jun [cited 2019 Jul 6];88(6):791–804. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8329970>
143. Wallenstein S, Fleiss JL, Chilton NW. The logistic analysis of categorical data from dental and oral experiments. *Pharmacol Ther Dent* [Internet]. 1981 [cited 2019 Jul 9];6(3–4):65–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6953452>
144. Chung T, Martin CS. Subjective Stimulant and Sedative Effects of Alcohol During Early Drinking Experiences Predict Alcohol

BIBLIOGRAFIA

- Involvement in Treated Adolescents. *J Stud Alcohol Drugs* [Internet]. 2009;70(5):660–7. Available from: <http://www.jsad.com/doi/10.15288/jsad.2009.70.660>
145. Corbin WR, Gearhardt A, Fromme K. Stimulant alcohol effects prime within session drinking behavior. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008 Apr;197(2):327–37.
 146. Morean ME, Corbin WR. Subjective Response to Alcohol: A Critical Review of the Literature. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010 Mar;34(3):385–95.
 147. Rosito GA, Fuchs FD, Duncan BB. Dose-dependent biphasic effect of ethanol on 24-h blood pressure in normotensive subjects. *Am J Hypertens* [Internet]. 1999 Feb [cited 2019 Jul 9];12(2 Pt 1):236–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10090355>
 148. Kupari M. Acute cardiovascular effects of ethanol A controlled non-invasive study. *Heart* [Internet]. 1983 Feb 1 [cited 2019 Jul 9];49(2):174–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6824540>