

WIDMARK'S EQUATION VERSUS PHARMACOKINETIC MODELLING IN BACK CALCULATION OF ALCOHOL CONCENTRATION

Wojciech GUBAŁA, Wojciech PIEKOSZEWSKI

Institute of Forensic Research, Cracow

ABSTRACT: Widmark's equation is often used for translating a measured blood alcohol concentration into a concentration of alcohol at the moment of accident, or the amount of alcohol consumed by a driver. The aim of the study was to compare the results of back calculation of alcohol concentration using Widmark's formula and pharmacokinetic modeling. A group of forty volunteers took part in this study. The men participating in the experiment were given alcohol in the form of 40% v/v vodka, at a dose of 0.7 g/kg which was supposed to cause a maximum concentration of 1 g/l ethanol in blood, according to the theoretical calculations based on the Widmark formula. The alcohol concentration in blood samples was determined by gas chromatography. Pharmacokinetic modeling was performed using the one compartment model with first order absorption and zero order elimination, and the pharmacokinetic parameters of ethanol were also calculated using the Widmark equation. The performed research showed that the calculation of consumed dose and back calculation of alcohol concentration by pharmacokinetic modeling and the Widmark formula allowed us to draw similar conclusions. However, calculation by the Widmark equation led to an overestimation of the maximal concentration of ethanol after consumption of a certain dose of alcohol.

KEY WORDS: Widmark calculations; Ethanol; Pharmacokinetic modeling.

Z Zagadnień Nauk Sądowych, z. L, 2002, 35–43
Received 20 May 2002; accepted 15 October 2002

INTRODUCTION

From many years Widmark's method has been used for retrograde extrapolation of a consumed dose of alcohol or its concentration during an accident by forensic experts [8]. Information on the quantity of alcohol consumed and the time of its consumption can be gained from a driver. However, in many cases drivers escape from the scene of the accident, and alcohol concentration is measured some time after, when the driver is caught by the police. Calculating the concentration of ethanol on the basis of such a measurement is saddled with many errors [5, 6, 7]. Alternatively, pharmacokinetic modeling (PK) could be used for these calculations, but in real-life sit-

uations forensic experts have insufficient numbers of blood samples to fit the model to the data [1]. The goal of this study was to use pharmacokinetic modeling for validation of results of calculations obtained by applying the Widmark equation in controlled studies.

METHODS

Forty male volunteers (aged 24–53 years) received a dose of 0.7 g/kg of ethanol in the form of vodka diluted with orange juice. After inserting a catheter into a cubital vein, fifteen to twenty blood samples were taken at time intervals ranging from 5 to 420 min. Written informed consent was obtained from each subject in the study.

The ethanol concentrations were measured using head-space gas chromatography described earlier [9]. In brief, 0.2 ml of blood was mixed with 1.8 ml (0.02 g/l) 2-methylpropan-2-ol as an internal standard (IS). Head-space incubation time was 22 min at 60°C. Separation was achieved on a Carbowax 1500 column under isothermic conditions (temp 100°C); the temperature of the flame ionization detector was 200°C. Chromatograms were recorded and calculations were done using a Turbochrom computer program. A six point (0.1–4 g/l) standard curve was prepared:

$$\text{Ethanol concentration} = f(AUC_{\text{ethanol}} / AUC_{\text{IS}}), \quad \{1\}$$

where AUC – area under curve chromatogram peak.

Pharmacokinetic calculations were done using a first-order model of absorption and zero-order elimination. The ADAPT II (Biomedical Simulations Resource, University of Southern, California) computer program was used for pharmacokinetic calculations.

The following equations were applied:

$$\begin{aligned} \frac{dC_{\text{EtOH}}}{dt} &= \left(\frac{k_a \cdot D}{V} \cdot e^{-k_a \cdot t} \right) - \frac{V_{\text{Max}} \cdot C_{\text{EtOH}}}{(K_M + C_{\text{EtOH}})} \\ \frac{dC_{\text{EtOH}}}{dt} &= \left(\frac{k_a \cdot D}{V} \cdot e^{-k_a \cdot t} \right) - {}_{60} \end{aligned} \quad \{2\}$$

where: k_a is absorption rate constant, ${}_{60}$ – zero order rate of elimination, D – dose of alcohol, V – apparent volume of distribution after oral dose, V_{Max} – maximum velocity of ethanol elimination, K_M – Michaelis' constant, C_{EtOH} – ethanol concentration.

The Widmark equation was also applied in calculations:

$$\text{Alcohol absorbed} = BW \cdot V(C_t + {}_{60}t), \quad \{3\}$$

where: BW is body weight, C_t – alcohol concentration at time t , volume of distribution.

To calculate Widmark's coefficient, the linear regression technique was used (the terminal part of the concentration time curve). The t-Student test was applied to compare the rate of ethanol elimination and its volume of distribution.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean values of pharmacokinetic parameters of alcohol for the whole studied group are shown in Table I.

TABLE I. MEAN VALUE (\pm SD) OF ALCOHOL PHARMACOKINETIC PARAMETERS IN FORTY STUDIED VOLUNTEERS (DOSE 0.7 g/kg)

Parameter	Curve fitting	Widmark calculation
\dot{C}_0 [g/h/l]	0.125 0.047	0.139 0.031 ^{NS}
V_d [l/kg]	0.834 0.151	0.705 0.174 ^{NS}
$T_{1/2a}$ [min]	16.5 13.5	–
V_{Max} [mmol/l/h]	7.53 2.12	–
K_M [mmol/l]	4.16 3.71	–

NS – non significant differences; $p < 0.05$.

The rate of alcohol elimination evaluated as the zero order elimination rate (\dot{C}_0) and the volume of distribution were calculated from curve fitting and by dividing the dose of consumed alcohol by extrapolated concentration at time 0 (zero). The values of elimination rate obtained by curve fitting and linear regression (Widmark method) were 0.125 ± 0.047 and 0.139 ± 0.031 g/h/l respectively and statistically significant differences were not revealed. Also, the volume of ethanol distribution calculated by both methods was in the same range (0.834 ± 0.151 and 0.705 ± 0.174 l/kg) as usually reported in the literature for men [2, 4]. The other estimated parameter, the half-life time of absorption (16.5 ± 13.5 min), calculated by curve fitting was very unstable and its variability was higher than 80%.

Results of alcohol determination in blood of all forty volunteers are shown in Figure 1.

Examples of “good and bad” fitting of the applied model to the obtained alcohol concentrations are shown in Figure 2.

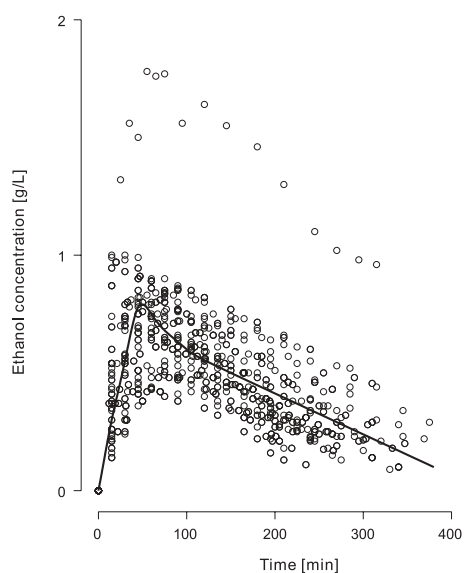


Fig. 1. Changes of ethanol concentrations in blood of all studies volunteers.

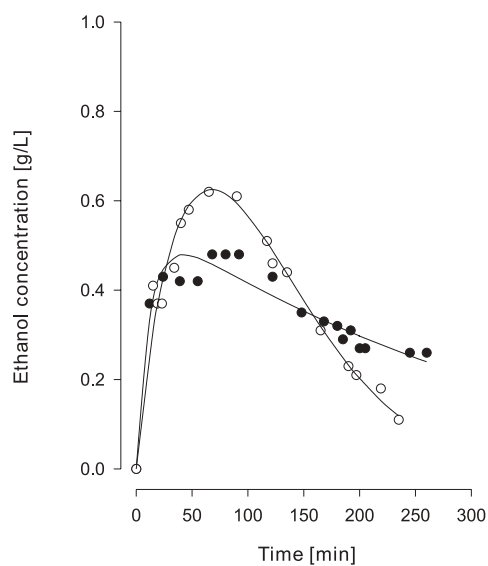


Fig. 2. Two profiles of alcohol concentration in blood (symbols are experimental data, lines are the best fitting of one compartment model with first order absorption and zero order elimination to the data).

The maximum concentration of ethanol after taking the same dose in standardised experimental conditions (theoretical maximum concentration 1 g/l) ranged from 0.42 to 1.80 g/l. The applied pharmacokinetic model predicted

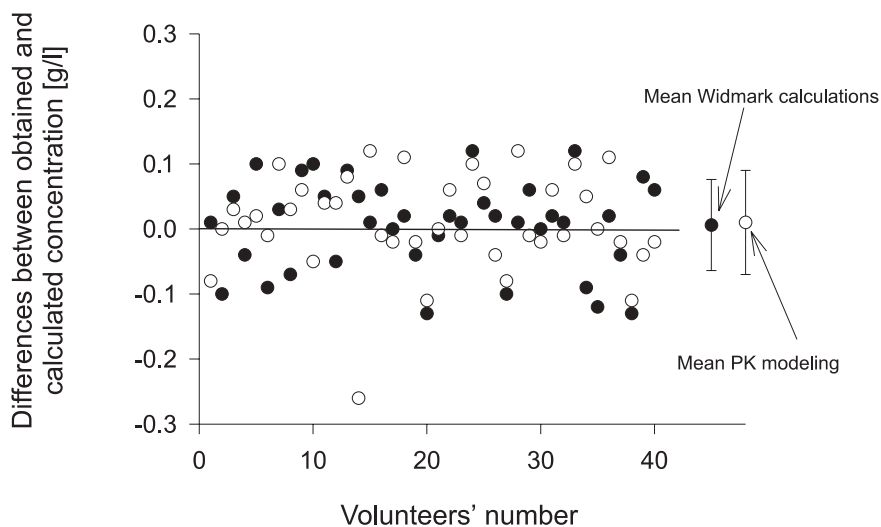


Fig. 3. Differences between obtained and calculated ethanol concentration [g/l].

the maximum concentration in 48.3% of subjects, but when the Widmark equation was applied agreement was obtained in only 17.5% of subjects. Also, the time of attaining maximum concentration was very variable: the mean experimental value was 58 min, and that obtained by pharmacokinetic modeling – 46 min. The differences in the time of achieving maximum concentration of ethanol obtained by both methods were not statistically significant ($p < 0.05$).

The rates of metabolism calculated for the studied group of volunteers were 7.53 ± 2.12 mmol/l/h (V_{Max}) and 4.16 ± 3.71 mmol/l (K_M), which means that they were in the same range as reported in the literature [5].

Back calculations of ethanol concentration were performed using parameters calculated by the pharmacokinetic modeling method and on the basis of the Widmark equation. The differences between raw data and results obtained by modeling and calculation are shown in Figure 3.

A comparison of results of back calculation of ethanol concentration using sophisticated pharmacokinetic models (first order absorption and zero order elimination) and Widmark's equation shows that both methods provide the same results. It can be concluded that Widmark's equation is sufficient for back calculation of ethanol concentration and for estimating the dose of alcohol consumed in forensic cases. However, this equation overestimates the maximal concentration of ethanol after consumption of a defined dose of alcohol.

References:

1. al-Lanqawi Y., Moreland T. A., McEwen J. [et al.], Ethanol kinetics: Extent of error in back extrapolation procedures, *British Journal of Clinical Pharmacology* 1992, vol. 34, pp. 316–321.
2. Gullberg R. G., Jones A. W., Guidelines for estimating the amount of alcohol consumed from a single measurement of blood alcohol concentration: re-evaluation of Widmark's equation, *Forensic Science International* 1994, vol. 69, pp. 119–130.
3. Jones A. W., Hahn R. G., Pharmacokinetics of ethanol in patients with renal failure before and after hemodialysis, *Forensic Science International* 1997, vol. 90, pp. 175–183.
4. Kohlenberg-Moller K., Bitsch I., Neue Methoden zur pharmakokinetischen Bestimmung des Alkohols und seiner Metaboliten bei weiblichen und männlichen Versuchspersonen, *Blutalkohol* 1989, Bd 26, S. 396–404.
5. Roeder B., Über die Möglichkeit die Blutalkoholkonzentration anhand von Trinkprotokollen zu schätzen: Analyse des Standardschatzfehlers, *Blutalkohol* 1997, Bd 34, S. 294–305.
6. Schyma C., Schyma P., Über die Zuverlässigkeit der Rückrechnung auf die Tatzeitblutalkoholkonzentration, *Blutalkohol* 1996, Bd 33, S. 65–70.
7. Siedle S., Jensen U., Alt A., The calculation of blood ethanol concentration in males and females, *International Journal of Legal Medicine* 2000, vol. 114, pp. 71–77.
8. Widmark E. M. P., Principles and applications of medico-legal alcohol determination, Biomedical Publications, Davis 1981.
9. Zuba D., Piekoszewski W., Pach J. [et al.], Concentration of ethanol and other volatile compounds in blood of acutely poisoned alcoholics, *Alcohol* 2002, vol. 26, pp. 17–22.

RÓWNANIE WIDMARKA A MODELOWANIE FARMAKOKINETYCZNE W RETROSPEKTYWNYM OBLICZANIU STĘŻENIA ALKOHOLU

Wojciech GUBAŁA, Wojciech PIEKOSZEWSKI

WSTĘP

Metoda Widmarka jest od wielu lat stosowana przez biegłych sądowych do obliczeń retrospektywnych spożytej dawki alkoholu lub jego stężenia podczas wypadku [8]. Informacje na temat ilości spożytego alkoholu i czasu jego konsumpcji mogą być uzyskane od kierowcy. Jednak w wielu przypadkach osoby prowadzący pojazd uciekają z miejsca zdarzenia i stężenie alkoholu jest mierzone po pewnym czasie, gdy kierowca zostanie zatrzymany przez policję. Obliczenie stężenia etanolu na podstawie takiego pomiaru jest obarczone wieloma błędami [5, 6, 7]. Do tego typu obliczeń może być alternatywnie zastosowane modelowanie farmakokinetyczne (PK), jednak w rzeczywistej sytuacji biegli sądowi dysponują niewystarczającą liczbą prób krwi, aby dopasować dane do modelu [1]. Celem badań przedstawionych w niniejszej pracy było zastosowanie modelowania farmakokinetycznego do walidacji wyników obliczeń uzyskanych przez zastosowanie równania Widmarka w badaniach kontrolnych.

METODY

Czterdziestu mężczyznom-ochotnikom (w wieku 24–53 lat) podano dawkę etanolu w ilości 0,7 g/kg w postaci wódki rozcieńczonej sokiem owocowym. Po wprowadzeniu wenflonu do żyły łokciowej od badanych pobrano od 15 do 20 prób krwi w przedziałach czasu od 5 do 420 min. Wszyscy ochotnicy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniach.

Stężenia etanolu mierzono, stosując opisaną wcześniej w literaturze metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem analizy fazy nadpowierzchniowej (*head-space*) [9]. W skrócie: do 0,2 ml krwi dodano 1,8 ml 2-metylopropan-2-olu o stężeniu 0,02 g/l, który stosowany jest jako wzorzec wewnętrzny (IS). Czas termostatowania próbki wynosił 22 min w 60°C. Rozdział uzyskano na kolumnie Carbowax 1500 w warunkach izotermicznych (temperatura 100°C), a temperatura detektora płomieniowo-jonizacyjnego wynosiła 200°C. Chromatogramy zbierano i wykonywano obliczenia, stosując program komputerowy Turbochrom. Zastosowano sześciopunktową krzywą wzorcową (0,1–4,0 g/l):

$$\text{Stężenie etanolu} = f(AUC_{\text{ethanol}}/AUC_{\text{IS}}), \quad \{1\}$$

gdzie: AUC – pole powierzchni pod krzywą (pikiem chromatograficznym).

Obliczenia farmakokinetyczne wykonano, stosując model ze stałą wchłaniania pierwszego rzędu oraz eliminacji zerowego rzędu. Do przeprowadzenia obliczeń farmakokinetycznych użyto programu komputerowego ADAPT II (Biomedical Simula-

tion Resource, University of Southern, Kalifornia). Zastosowano następujące równania:

$$\frac{dC_{EtOH}}{dt} = \left(\frac{k_a \cdot D}{V} \cdot e^{-k_a \cdot t} \right) - \frac{V_{Max} \cdot C_{EtOH}}{(K_M + C_{EtOH})} \quad \{2\}$$

$$\frac{dC_{EtOH}}{dt} = \left(\frac{k_a \cdot D}{V} \cdot e^{-k_a \cdot t} \right) - \beta_0$$

gdzie: k_a – stała szybkości wchłaniania, β_0 – szybkość eliminacji zerowego rzędu, D – dawka alkoholu, V – pozorna objętość dystrybucji po podaniu doustnym, V_{max} – maksymalna szybkość eliminacji etanolu, K_M – stała Michaelisa, C_{EtOH} – stężenie etanolu.

W obliczeniach zastosowano również równanie Widmarka:

$$\text{Ilość wchłoniętego alkoholu} = BW \cdot V(C_t + \beta_0 t), \quad \{3\}$$

gdzie: BW – masa ciała, C_t – stężenie alkoholu w czasie t , V – objętość dystrybucji.

Do obliczenia współczynnika Widmarka zastosowano technikę regresji liniowej (końcowa część krzywej czas – stężenie). Do porównania szybkości eliminacji etanolu i jego objętości dystrybucji zastosowano test t-Studenta.

WYNIKI I DYSKUSJA

Szybkość eliminacji etanolu określona jako szybkość eliminacji zerowego rzędu (β_0) i objętość dystrybucji zostały obliczone przez dopasowanie krzywej oraz przez podzielenie spożytej dawki alkoholu przez ekstrapolowane stężenie do czasu 0 (zero). Wartości stałej szybkości eliminacji uzyskane przez dopasowanie krzywej oraz modelowanie farmakokinetyczne regresji liniowej (metoda Widmarka) wynosiły odpowiednio $0,125 \pm 0,047$ oraz $0,139 \pm 0,031$ g/h/l i nie wykazywały statystycznie istotnych różnic. Również objętość dystrybucji etanolu obliczona obiema metodami znajdowała się w tym samym zakresie ($0,834 \pm 0,151$ i $0,705 \pm 0,174$ l/kg), jaki zwykle podawany jest w literaturze dla mężczyzn [2, 4]. Inny oszacowany parametr – czas połowicznego wchłaniania ($16,5 \pm 13,5$ min) obliczony przez dopasowanie krzywej – był bardzo niestabilny, a jego zmienność była wyższa niż 80%.

Wyniki oznaczania etanolu we krwi wszystkich czterdziestu ochotników przedstawiono na rycinie 1.

Przykłady „dobrego” i „złego” dopasowania zastosowanego modelu do uzyskanych stężeń alkoholu przedstawiono na rycinie 2.

Maksymalne stężenie etanolu po spożyciu tej samej dawki w standardowych warunkach eksperymentu (teoretyczne maksymalne stężenie powinno wynosić 1 g/l) znajdowało się w zakresie od 0,42 do 1,80 g/l. Zastosowany model farmakokinetyczny trafnie przewiduje maksymalne stężenie dla 48,3% przypadków, podczas gdy tylko w 17,5% przypadków uzyskano zgodność, gdy zastosowane zostało równanie Widmarka. Również czas osiągnięcia maksymalnego stężenia był bardzo zmienny: średnia wartość eksperymentalna wyniosła 58 min, natomiast uzyskana poprzez modelowanie farmakokinetyczne – 46 min. Różnice w czasie osiągnięcia maksymalnego stężenia etanolu obliczone obiema metodami nie były statystycznie istotne ($p < 0,05$).

Parametry opisujące szybkość metabolizmu obliczone dla badanej grupy ochotników wynosiły $7,53 \pm 2,12$ mmol/l/h (V_{max}) i $4,16 \pm 3,71$ mmol/l (K_M), co oznacza, że były na tym samym poziomie, jak podawane w literaturze [5].

Obliczenia retrospektywne stężenia etanolu wykonano, stosując parametry obliczone metodą modelowania farmakokinetycznego oraz na podstawie równania Widmarka. Różnice pomiędzy zmierzonymi stężeniami a uzyskanymi przez modelowanie oraz obliczone metodą Widmarka przedstawiono na rycinie 3.

Porównanie wyników obliczeń retrospektywnych stężenia etanolu wskazuje, że zastosowane zaawansowane modele farmakokinetyczne (wchłanianie pierwszego rzędu i eliminacja zerowego rzędu) oraz równanie Widmarka dostarczyły jednakowych wyników. Można wnioskować, że równanie Widmarka jest wystarczające do wykonania retrospektywnych obliczeń stężenia etanolu i oszacowania dawki spożytego alkoholu w sprawach sądowych, jednak równanie to przeszacowuje maksymalne stężenie etanolu po spożyciu określonej dawki alkoholu.