

Strokovni prispevek/Professional article

TRANSFERIN Z ZMANJŠANIM DELEŽEM OGLJIKOVIH HIDRATOV (CDT) KOT OZNAČEVALEC SINDROMA ODVISNOSTI OD ALKOHOLA

CARBOHYDRATE-DEFICIENT TRANSFERRIN (CDT) AS A MARKER OF ALCOHOL DEPENDENCY

*Matej Kravos,¹ Ivan Malešič²*¹ Psihatri na bolnišnica Ormož, Ptujška cesta 33, 2270 Ormož² Katedra za klinično biokemijo, Medicinska fakulteta Maribor, Univerza v Mariboru, Slomškov trg 15, 2000 Maribor

Izvleček

Izhodiš a Čezmerno uživanje alkohola prične spreminjati strukturo transferina v transferin z zmanjšanim deležem ogljikohidratov (CDT). Od vseh znanih laboratorijskih označevalcev je edino CDT specifičen, noben pa ni dovolj občutljiv za dokazovanje odvisnosti od alkohola.

Metode V raziskavi smo hoteli potrditi odvisnost od alkohola s pomočjo vprašalnikov in laboratorijskih označevalcev, s posebnim poudarkom na CDT.

Rezultati Vključenih je bilo 68 (92,6 % moških, 7,4 % žensk) krvodajalcev in ambulantnih kontrolnih oseb ter 186 (89,2 % moških, 10,8 % žensk), bolnišnično zdravljenih zaradi odvisnosti od alkohola. Prvim smo označevalce določili enkrat, drugim ob sprejemu v bolnišnico, po 14 in po 42 dneh.

Odvisni od alkohola so imeli statistično značilno zvišane vrednosti CDT, glutamat dehidrogenaze (GLDH), aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT), gama-glutamil transferaze (GGT), povprečnega volumna eritrocitov (MCV) in znižane vrednosti sečnine. Najbolj zanesljiv je bil CDT z visokima specifičnostjo (91,2 %) in občutljivostjo (81,4 %). Površina pod krivuljo ROC je bila izjemna z 99,9 %.

Statistično značilna je bila tudi kinetika normalizacije CDT, AST, ALT, GGT, MCV in kreatinina po 14 dneh ter CDT, AST, GGT, MCV in kreatinina po 42 dneh abstinence. Potek normalizacije vrednosti CDT smo ocenili kot klinično najuporabnejši.

Diagnostično najpomembnejša je bila kombinacija CDT, MCV in AST. Pomen GGT je bil nižji od naših pričakovanj.

Zaključ i V naši populaciji je CDT, v primerjavi z ostalimi, najbolj specifičen označevalec z visoko občutljivostjo. Kot samostojen označevalec ali kot presejalni test odvisnosti od alkohola pa ni dovolj zanesljiv. Njegova uporabnost je ključna v diagnostiki, kontroli abstinence in izvedenstvu, vendar le v kombinaciji z ostalimi laboratorijskimi označevalci.

Ključne besede biološki označevalec; etanol; diagnostika odvisnosti; konstelacija preiskav; abstinenca

Abstract

Background Excessive alcohol consumption starts to change the structure of transferrin into the carbohydrate-deficient transferrin (CDT). CDT is the only specific laboratory marker for alcohol dependency. However no one at all is sensitive enough.

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Dr. Matej Kravos, dr. med., Zasebna psihiatri na ordinacija dr. Matej Kravos, dr. med., spec. psih., Trg svobode 26, 2310 Slovenska Bistrica, tel.: 02 / 842 11 46

Method	<i>In our study we wanted to confirm the alcohol dependency by means of questionnaires and laboratory markers, particularly CDT.</i>
Results	<p><i>Investigated were 68 (92.6 % males, 7.4 % females) general practice healthy patients and blood donors and 186 (89.2 % males, 10.8 % females) inpatient alcoholics. A blood sample was taken once from every healthy subject and three times from every alcoholic: on admission to hospital, after 12 days and again after 42 days.</i></p> <p><i>In alcoholics we found statistically significantly elevated CDT, glutamate dehydrogenase (GLDH), aspartate-aminotransferase (AST), alanine-aminotransferase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT) and mean corpuscular volume (MCV) and decreased urea values. CDT was the most reliable marker with high specificity (91.2 %) and sensitivity (81.4 %). The area under ROC-curve was exceptional with 99.9 %.</i></p> <p><i>The kinetics of CDT, AST, ALT, GGT, MCV and creatinine normalization after 14 days were also statistically significant as well as kinetics of CDT, AST, GGT, MCV and creatinine normalization after 42 days. We estimated the course of CDT value normalization as the most applicable.</i></p> <p><i>The most important diagnostic marker combination was composed by CDT, MCV and AST. GGT had lower importance as expected.</i></p>
Conclusions	<i>In our population CDT was the most specific marker of all, attaining high sensitivity. But it was not reliable enough as the sole marker or as the screening one for alcohol dependency. Its main applicability is in diagnostics of alcoholism, control of alcohol abstention and forensic cases but solely in combination with other laboratory markers of alcoholism.</i>
Key words	<i>biological marker; ethanol; diagnostics of dependency; constellation of medical investigations; abstinence</i>

Uvod

Diagnostika sindroma odvisnosti od alkohola

Odvisnost od alkohola je skupek vedenjskih, kognitivnih in fizioloških fenomenov, ki se razvijajo po ponavljajočem se in dlje časa trajajočem uživanju alkohola. Odvisna od alkohola je oseba, ki je v zadnjem letu izpolnila vsaj tri od šestih meril v obliki simptomov: močna želja po pitju alkohola, spremenjena toleranca (za enak učinek je potrebno spiti več alkohola kot prej oz. enaka količina popitega alkohola ima manjši/slabši učinek kot prej), vse večje posvečanje pitju alkohola ter zanemarjanje obveznosti in dejavnosti (družinske, poklicne ...), izguba nadzora nad uživanjem alkohola, odtegnitveno stanje pri prenehanju ali obutnem zmanjšanju pitja alkohola, vztrajanje pri pitju alkohola kljub že ugotovljenim škodljivim posledicam.¹

Nih ne razvije odvisnosti brez nekaj let trajajočega tveganega pitja. Potek odvisnosti je lahko različen. Velikokrat ima napredujoči potek, ki mu sledijo težave z zdravjem, zmanjšana delovna uspešnost, osamljenost in/ali zmeraj bolj nezdravi odnosi v družini. V dolgotrajnih življenjskih obdobjih veliko ljudi izpolni merila odvisnosti od alkohola (življenjske prelomnice, študij, osebne travme, bolezni ...) in so sposobni sami zmanjšati uživanje alkoholnih pijač do meja zmernih pivcev po razrešitvi spodbujajočega dejavnika, nekateri pa prenehajo piti tudi sami.^{1,2}

Za diagnosticiranje odvisnosti od alkohola imamo na voljo naslednje metode: anamnestični in heteroanamnestični podatki, vprašalniki ter biokemični kazalci odvisnosti. Za zanesljivo odkrivanje in potrjevanje tveganega uživanja in odvisnosti sta dobra tehni-

ka pogovora in vprašalnik premalo. Laboratorijske metode bistveno olajšajo diagnostični no-terapevtski proces.²

Zanesljivega standarda, s katerim bi merili pивske navade, še ni, zato je toliko težje oceniti specifičnost in občutljivost posameznega testa za potrditev odvisnosti od alkohola. Presnova etanola je v primerjavi s številnimi drugimi drogami hitra in v bistvu popolna. Obeh koničnih produktov presnove, vode in ogljikovega dioksida, ni mogoče ločevati glede na izvor. Zato je nujno, da iščemo označevalce, ki so posledica vpliva pitja alkohola. Biokemični testi za oceno uživanja alkohola imajo svoje omejitve, ki jih moramo razumeti in upoštevati. Pri proučevanju je potrebno ločiti med tremi vrstami pivcev: kontrolna skupina ali zmerni pivci, težki ali pivci s tveganjem in odvisni od alkohola.³

Pomembnejše spremembe običajno iskanih laboratorijskih vrednosti ugotovimo v napredovalem stadiju odvisnosti od alkohola. Najpogosteje prizadeti organi so jetra, ledvice in eritropoetski sistem. Za biološko oceno pivskega vedenja je veliko strokovnih prizadevanj, predvsem v smeri iskanja zanesljivih označevalcev z razpolovno dobo razgradnje, daljšo od etanola. Še noben biološki označevalac ni dosegel 100-odstotne zanesljivosti in občutljivosti, razen merjenja alkohola v krvi, ki pa ne potrjuje odvisnosti. Izjema je morda transferin z zmanjšanim deležem ogljikovih hidratov (CDT).^{4,5} Na voljo imamo naslednje skupine bioloških označevalcev, npr.:

- neposredne označevalce uživanja alkohola, ki pa ne potrjujejo odvisnosti (npr. alkohol v krvi, fosfatidiletanol v krvi, etil glukoronid, etilni estri maščobnih kislin, na hemoglobin vezan acetaldehid itd.);

- označevalce toksičnosti kroničnega vnosa alkohola (npr. gama-glutamiltransferaza [GGT], aspartat-aminotransferaza [AST], alanin-aminotransferaza [ALT], povprečni volumen eritrocitov [MCV], alkohol-dehidrogenaza [ADH] itd.);
- posredne označevalce kroničnega vnosa alkohola (npr. CDT, razmerje 5-hidroksitriptanol : 5-hidroksiindolacetna kislina v seču itd.).⁶

Že leta 1984 je skupina strokovnjakov izdelala smernice za biokemično potrjevanje in izključevanje sindroma odvisnosti od alkohola. Med drugim so sestavili kombinacijo označevalcev:

GGT	zvišana
AST (ALT)	zvišana
MCV	zvišan
sečnina	nižja od 5,0 mmol/L
kreatinin	nižji od 66,3 mmol/L

es vsaj 4 preiskave »pozitivne«, je diagnostična občutljivost 96-odstotna.^{7, 8} Kljub temu obstaja optimizem, da bo kombinacija znanih ali še neodkritih označevalcev v prihodnosti morda zagotovila dovolj specifičen in občutljiv test za ugotavljanje odvisnosti od alkohola.

Na razpolago so tudi vprašalniki, ki pa lahko služijo le kot presejalni testi. Pogosto se uporabljata AUDIT (Alcohol Use Disorder Identification Test), ki obsega deset stopenjskih vprašanj,⁹ in Münchenski test za odkrivanje odvisnih od alkohola (Münchener Alkoholismustest – MALT), ki upošteva tudi spremenjene laboratorijske vrednosti. Sestavljen je iz samoocenjevalne lestvice in iz zdravnikove ocene.¹⁰

Transferin z zmanjšanim deležem ogljikovih hidratov (CDT)

CDT je zmeraj bolj v središču pozornosti zaradi sorazmerno visoke diagnostične specifičnosti okoli 97 % in le nekoliko nižje občutljivosti okoli 80 %, v primerjavi z drugimi laboratorijskimi označevalci, ki jih uporabljamo v diagnostiki zlorabe alkoholnih pijač.^{11, 12}

Transferin je serumska beljakovina in ima pomembno vlogo pri prenašanju železa. Molekula je po svoji naravi glikoprotein z molekulsko maso okrog 80 000. V serumu je v visokih koncentracijah, pojavlja pa se tudi v drugih bioloških tekočinah. Nastaja v jetrih, njegova razpolovna doba je 15 dni. Njegova najpomembnejša funkcija je v prenašanju železa. Sestavljen je iz polipeptidne verige in dveh verig ogljikohidratov. Peptidno verigo sestavlja 679 aminokislin. Nanjo sta na mestih 413 in 611 vpeti 2 verigi ogljikohidratov z molekulsko maso 4400. Ogljikohidratna veriga vsebuje N-acetilglukozamin, manozo, galaktozo in sialinsko kislino. Število in položaj sialinskih kislin v molekuli vpliva na izoelektrično točko beljakovine. Različne izooblike transferina imajo različne izoelektrične točke (pI), ko so nasičene z železom:

- pentasialotransferin pI = 5,3,
- tetrasialotransferin pI = 5,4,
- trisialotransferin pI = 5,6,
- disialotransferin pI = 5,7,

- monosialotransferin pI = 5,8,
- asialotransferin pI = 5,9.

Pri zdravih ljudeh prevladuje tetrasialo oblika transferina.

CDT pa zajame:

- disialotransferin,
- monosialotransferin,
- asialotransferin.

Nekatere starejše metode za ugotavljanje CDT pri dolgotrajni deloma zajamejo tudi trisialotransferin.¹²⁻¹⁴

Pri zmernem uživanju alkoholnih pijač se za ne struktura transferina spreminjati, tako da pri neje nastajati oblike disialo-, monosialo- in asialotransferina. Najpogostejša oblika je disialotransferin. Pri zdravih ljudeh je je običajno manj kot 1 %, medtem ko se pri zmernem uživanju alkohola delež lahko zveča tudi deset- do petnajstkrat. Asialotransferin se pojavi šele pri uživanju izjemno velikih količin alkohola. Najverjetnejši vzrok zmernega nastanka CDT je motnja glikoziliranja transferina v Golgijevem aparatu kot posledica inhibicije glikoziltransferaze zaradi povečane vnosa alkohola ter/ali delovanja acetaldehida, ki nastane pri presnovi alkohola.^{12, 15}

Pri osebah z uživanjem alkoholnih pijač do 15 g za ženske in do 40 g za moške ostajajo serumske vrednosti normalne.^{16, 17} Če pa bi štirinajst dni zaporedoma pili vsak dan vsaj 60 g alkohola, bi že dobili v serumu zvišane vrednosti CDT. Z abstinenco se vrednosti uravnajo, vendar šele po 15 dneh.¹⁶⁻¹⁸ Pri moških je raven CDT bolj odvisna od pogostosti, medtem ko je aktivnost GGT bolj odvisna od jakosti pitja. Pri ženskah pa sta obe vrednosti pogosteje povezani z jakostjo pitja.¹⁹⁻²² Pri moških, odvisnih od alkohola, in »težkih pivcih« je CDT rahlo bolj občutljiv označevalce od GGT. Pri ženskah pa je zanesljivejši GGT. Pomembno bolj učinkovit kakor GGT je CDT pri odkrivanju recidiva.²³ Preiskava CDT je zato zelo primerna za nadzorovanje abstinence.¹⁶⁻¹⁸

Metode za ugotavljanje koncentracije in deleža CDT v serumu

Zaradi strukturne podobnosti CDT in transferina ter nizke koncentracije CDT v serumu je za analizo potrebna selektivna, specifična in občutljiva metoda.

Pri vseh metodah ločujemo CDT od transferina. To dosežemo zaradi razlik v naboju in v izoelektrični točki. Za ugotavljanje CDT uporabljamo različne modifikacije imunokemijskih in encimskoimunskih metod. Pri anionskoizmenjevalni kromatografiji se najprej adsorbirajo vse izooblike transferina na anionski izmenjevalec, nato se selektivno eluira CDT s skrbno izbranim pufrom. Položiti CDT določimo transferin z radioizotopskimi, encimskimi ali turbidimetričnimi imunokemijskimi metodami.

Novejši testi izražajo rezultate v odstotkih, starejši v mg/L oz. U/L. Referenčne vrednosti z metodami, ki ne zajemajo trisialotransferina, so do 2,5 % za oba spola.¹³

Krvni serum (približno 0,5 mL) za določitev CDT je stabilen pri sobni temperaturi 24 ur, pri 2 do 8 °C dva dni, pri -20 °C pa do enega leta.^{23, 24}

CDT v diagnostiki – konstelacija preiskav

Nekatere kombinacije testov za ugotavljanje ezmernega uživanja alkohola zvišujejo ob utljivost, a znižujejo specifičnost. Kombinacija CDT in GGT ima višjo ob utljivost in specifičnost pri ljudeh, ki pijejo več kot 60 g (6 enot) alkohola dnevno.²⁵⁻²⁷ Kombinacija CDT in GGT ima 90-odstotno ob utljivost za kontrolo abstinence v zadnjih 30 dneh, medtem ko naj bi ponovno zvišanje vrednosti MCV upoštevali pri recidivih po daljših obdobjih abstinence.²⁸ CDT je v primerjavi z GGT in MCV ob utljivejši, vendar ne dovolj, da bi ga lahko uporabljali kot presejalni test.^{29, 30} Kot presejalni test bi ga lahko uporabljali v kombinaciji s samoocenjevalnima lestvicama MAST (Michigan Alcohol Screening Test) ali CAGE (Cut-down, Annoyed, Guilt, Eye-opener test).^{31, 32} Posebno pomembna je skupna uporaba CDT in GGT ali GLDH, saj sta medsebojno neodvisna in povezana z odvisnostjo od alkohola.^{33, 34} Zaključki so velikokrat nasprotujoči si, kar je odvisno tudi od zahtev, ali naj bosta oba označevalca pozitivna oz. kako vrednotiti lažno pozitivne in lažno negativne rezultate. Odstopanja so velika.⁶ Pomembno je, da se določi več označevalcev odvisnosti od alkohola. Priporočajo se naslednji: GLDH, GGT, ALT, AST, MCV in CDT.^{6, 34} Pri tem je potrebno upoštevati, da se po vzpostavitvi abstinence GLDH povrne v normalo v tednu dni, CDT v 2–3 tednih, GGT v 6–8 tednih in MCV v 3 mesecih. V 30 % bolnikov, ki so kronično uživali alkohol, pa se GGT, kljub abstinenci, ne povrne na izhodiščno aktivnost.^{6, 12, 20, 23, 33}

Namen

Namen raziskave je bil zanesljivo potrditi sindrom odvisnosti od alkohola z enim ali več laboratorijskimi označevalci ob uporabi samoocenjevalnih in kombiniranih (samoocenjevalnih in objektivnih) vprašalnikov, s posebnim poudarkom na CDT.

Zanimalo nas je, kako visoki sta specifičnost in ob utljivost, ter opredeliti morebitne, za slovensko populacijo značilne mejne vrednosti CDT pri odvisnih od alkohola, ugotoviti, ali je možno samo z laboratorijskimi vrednostmi in samoocenjevalnimi vprašalniki diagnosticirati odvisnost od alkohola, in ali je možno spremljanjem dinamike padanja zvišanih vrednosti označevalcev sklepati o bolnikovi abstinenci.

Material in metode

Vključitvena merila

Bolniki, ki so zdravljeni odvisni od alkohola obeh spolov, stari med 18 in 65 let, in diagnosticirani v skladu z 10. revizijo Mednarodne klasifikacije bolezni, ki so sodelovali prostovoljno.³⁵

Kontrolna skupina je bila izbrana naključno iz skupine krvodajalcev in oseb iz javnih zdravstvenih ustanov.

P V S E H P T I O D V I S N I H O D A L K O H O I H I N (K O N T R I S N I N O A H P I

jih je 29,7 % ocenilo, da so tedensko popili od 15–30 enot, 70,3 % pa več kot 30 enot etanola. Več kot polovica jih je alkoholne pijače zlorabljalo manj kakor 10 let, najdalj pa 40 let.

Povprečni rezultat MALT lestvice kontrolnih oseb je bil 1,76 (SD 2,25), medtem ko odvisnih od alkohola 28,34 (SD 7,49), za AUDIT pa 2,44 (SD 1,81) oz. 21,08 (SD 7,75) točke.

Vrednosti oz. aktivnosti posameznih označevalcev so podane v Razpredelnici 1.

Primerjava označevalcev kontrolnih oseb in odvisnih od alkohola

Razlike med skupinama smo preizkusili s parametri nim t-testom za MCV, se nino in kreatinin, katerih vrednosti so bile simetrično porazdeljene, ter z Mann-Whitnejevim neparametri nim U-testom za ostale označevalce, katerih aktivnosti/vrednosti so bile nesimetrično porazdeljene. Skupini se statistično značilno razlikujeta glede vseh obravnavanih označevalcev, razen kreatinina (Sl. 1). Enako velja za vprašalnika (MALT: $U = 17,000$, $Z = -12,036$, $p < 0,0005$; AUDIT: $U = 63,000$, $Z = -11,913$, $p < 0,0005$).

Kinetika označevalcev po prenehanju pitja alkohola

Potek spreminjanja vrednosti označevalcev pri odvisnih od alkohola od 1. do 3. meritve smo preizkusili s

parametri nim t-testom parov (CDT, GLDH, se nina, kreatinin) in z neparametri nim Wilcoxonovim testom predznačenih rangov (MCV, AST, ALT, količnik AST/ALT, GGT, kreatinin). Vključeni so bili le odvisni od alkohola, ki so imeli obe (GLDH) ali vse tri meritve (ostali). Meritev aktivnosti GLDH je bilo manj, saj so bile le preliminarna osnova za posebno študijo.³⁴ Meritve CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, količnik AST/ALT in GGT so bile vse statistično pomembno različne, medtem ko sta pri kreatininu le razliki med 1. in 2. ter 1. in 3. meritvijo (Razpr. 2, Sl. 2).

Specifičnost in občutljivost

Specifičnost in občutljivost po posameznih meritvah so prikazane v Razpredelnici 3. Spreminjanje deleža od 1. do 3. meritve smo preizkusili s Pearsonovim kvadrat testom. Vključeni so bili le odvisni od alkohola, ki so imeli tri meritve (za GLDH dve), pri oceni deleža pa so vsakokrat upoštevani vsi odvisni od alkohola s podatkom za dano meritve (Razpr. 4).

Krivulja ROC za CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, količnik AST/ALT, GGT, sečnino, kreatinin, AUDIT in MALT

Diagnostično zanesljivost označevalcev smo preverili s krivuljo ROC. Dobljene vrednosti so statistično pomembne za CDT, GLDH, MCV, AST, količnik AST/ALT, GGT, se nino, AUDIT in MALT. Kritične vrednosti

Razpr. 1. Vrednosti oz. aktivnosti posameznih označevalcev.

Table 1. Value and activity of separate markers.

	Kontrolne osebe (I) Control (I)					Odvisni od alkohola (I) Alcohol abuse (I)					Odvisni od alkohola (II) Alcohol abuse (II)			Odvisni od alkohola (III) Alcohol abuse (III)		
	N	Min	Max	SV	SO	N	Min	Max	SV	SO	N	SV	SO	N	SV	SO
CDT	68	0,8	4,7	1,79	0,65	183	1,1	20,6	3,95	2,13	137	2,59	0,81	77	2,13	0,67
GLDH	47	0	578	53,49	98,72	60	12	20,95	246,98	398,49	32	43,78	35,61	/	/	/
MCV	68	77	103	90,96	4,51	184	79	114	98,91	5,31	144	98,19	4,79	89	95,56	4,00
AST	68	0,06	3,17	0,33	0,39	186	0,10	3,95	0,76	0,64	147	0,32	0,21	89	0,25	0,16
ALT	68	0,07	4,74	0,51	0,61	186	0,11	3,02	0,67	0,56	147	0,46	0,35	89	0,31	0,32
AST/ALT	68	0,21	2,29	0,78	0,40	137	0,24	5,05	1,24	0,68	114	0,83	0,44	89	0,95	0,35
GGT	68	0,10	3,67	0,47	0,52	186	0,10	27,20	3,10	4,06	147	1,65	2,07	89	0,67	0,90
Se nina Urea	68	2,6	9,2	5,38	1,34	185	1,1	11,1	3,82	1,68	148	3,67	1,23	88	3,68	1,08
Kreatinin Creatinine	68	58	114	83,47	12,67	185	48	151	87,26	16,32	148	85,64	12,93	89	85,40	12,83

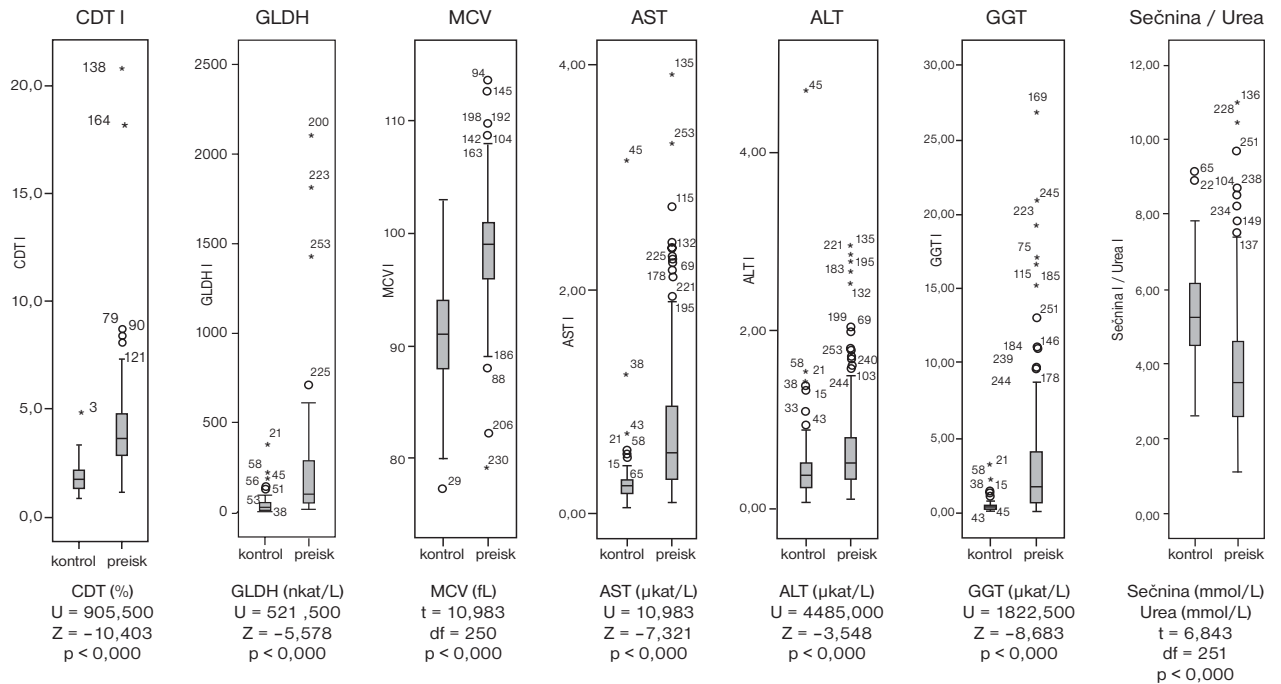
SV = srednja vrednost / mean value, SO = standardni odklon / SD, I = prvi odvzem / 1st sampling, II = drugi odvzem / 2nd sampling, III = tretji odvzem / 3rd sampling

Razpr. 2. Kinetika označevalcev po prenehanju pitja alkohola.

Table 2. Kinetics of markers after cessation of drinking.

Označevalca Marker	Test	n	t/Z	p	Označevalca Marker	Test	n	t/Z	p
CDT I-II	t	136	11,630	0,000	CDT I-III	T	77	11,553	0,000
GLDH I-II	W	32	-4,704	0,000	/	/	/	/	/
MCV I-II	W	144	-4,273	0,000	MCV I-III	W	89	-7,854	0,000
AST I-II	W	147	-9,228	0,000	AST I-III	W	89	-7,674	0,000
ALT I-II	W	147	-6,092	0,000	ALT I-III	W	89	-6,745	0,000
AST/ALT I-II	W	114	-6,847	0,000	AST/ALT I-III	W	89	-3,878	0,000
GGT I-II	W	147	-9,534	0,000	GGT I-III	W	89	-8,076	0,000
Se nina I-II Urea I-II	t	147	1,122	0,264	Se nina I-III Urea I-III	t	88	0,443	0,659
Kreatinin I-II Creatinine I-II	W	147	-1,467	0,142	Kreatinin I-III Creatinine I-III	t	89	4,099	0,000

t = t-test parov / t-test, W = Wilcoxonov test predznačenih rangov / Wilcoxon test of premarked ranges, I = prvi odvzem / 1st sampling, II = drugi odvzem / 2nd sampling, III = tretji odvzem / 3rd sampling

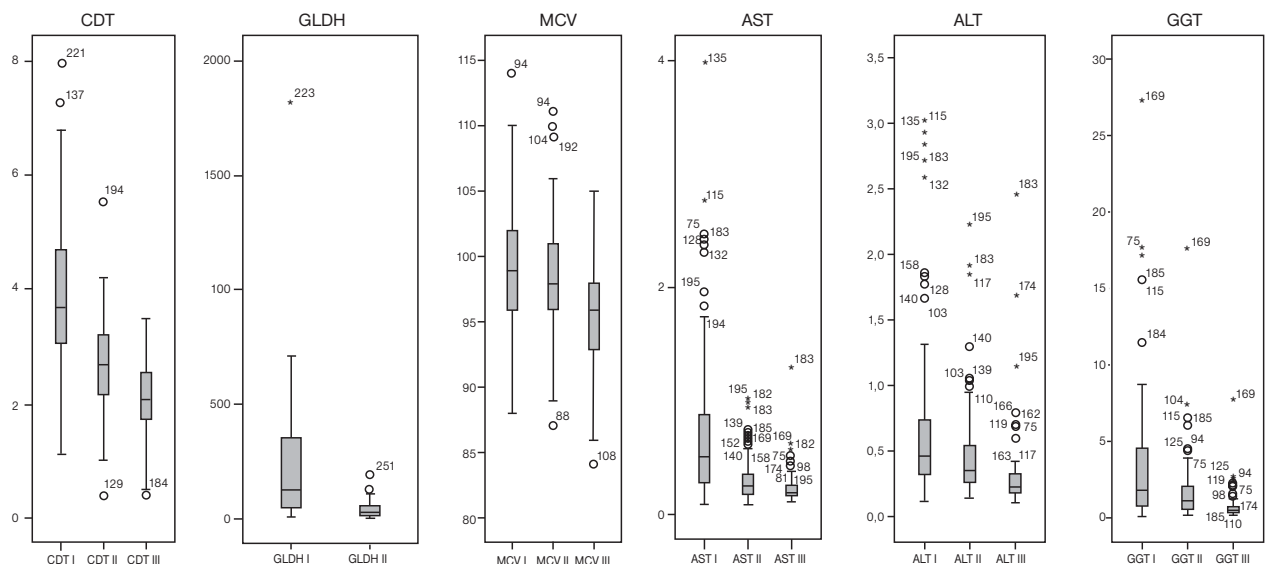


Sl. 1. Razlike MCV in sečnine med skupinama (simetrična porazdelitev) – t-test in CDT, GLDH, AST, ALT in GGT med skupinama (nesimetrična porazdelitev) – Mann-Whitneyev U-test.

Razlike aktivnosti/vrednosti označevalcev so prikazane z diagrami tipa zabojev z ročaji (srednja črta označuje mediano, zabojev 1. in 3. četrtino, ročaji skrajne vrednosti, o odklon = 1,5- do 3-kratna višina zaboja, * skrajna vrednost = > 3-kratna višina zaboja; kont = kontrolne osebe, pre = odvisni od alkohola).

Figure 1. MCV and urea differences between groups (symmetrical distribution) – t-test and CDT, GLDH, AST, ALT and GGT differences between groups (asymmetrical distribution) – Mann-Whitney U test.

Differences of marker's activity/value are shown by vertical boxplots (middle line = median, box = lower quartile [Q1] and upper quartile [Q3], handles = extreme values, o deviation = 1.5–3 times box height, *extreme value = > 3 times box height, cont = controls, pre = alcoholics).



Sl. 2. Kinetika označevalcev (CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, GGT) po prenehanju pitja alkohola.

Časovni potek spreminjanja aktivnosti/vrednosti označevalcev z diagramom tipa zabojev z ročaji (srednja črta označuje mediano, zabojev 1. in 3. četrtino, ročaji skrajne aktivnosti, o odklon = 1,5- do 3-kratna višina zaboja, * skrajna vrednost = > 3-kratna višina zaboja). Oznake I, II in III ob imenu encimov označujejo 1., 2. in 3. odvzem vzorca krvi.

Figure 2. Kinetics of markers (CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, GGT) after cessation of drinking.

Progression of marker activity/value changes is shown by vertical boxplots (middle line = median, box = lower quartile [Q1] and upper quartile [Q3], handles = extreme values, o deviation = 1.5–3 times box height, *extreme value = > 3 times box height. Labels I, II and III stand for 1st, 2nd and 3rd blood sampling.

Razpr. 3. *Specifičnost in občutljivost po posameznih meritvah.*

 Table 3. *Specificity and sensitivity of markers.*

	Specifičnost Specificity	Občutljivost 1. meritve Sensitivity 1 st examination	Občutljivost 2. meritve Sensitivity 2 nd examination	Občutljivost 3. meritve Sensitivity 3 rd examination
MALT	98,5	97,3	/	/
AUDIT	100	94,0	/	/
CDT	91,2	81,4	51,1	26,0
MCV	73,5	82,6	82,6	61,8
AST	95,6	45,2	10,2	3,4
ALT	83,6	29,0	15,6	4,5
GGT	89,7	66,7	55,8	14,6
Sečnina / Urea	52,4	85,4	85,8	87,5
Kreatinin / Creatinine	91,2	9,2	6,8	4,5
GLDH	87,2	41,7	3,1	/
AST/ALT	38,2	88,3	64,0	80,9

 Razpr. 4. *Spreminjanje deleža od 1. do 3. meritve (Pearsonov χ^2 -test).*

 Table 4. *The change of pathological portions from 1st to 3rd examination (Pearson's χ^2 -test).*

Označevalnik Marker	n	Vrednost Value	p	Označevalnik Marker	n	Vrednost Value	P
CDT I-II	136	20,963	0,000	CDT I-III	77	7,514	0,000
GLDH I-II	32	0,911	0,340	/	/	/	/
MCV I-II	144	7,514	0,000	MCV I-III	89	22,437	0,000
AST I-II	147	13,091	0,000	AST I-III	89	4,571	0,033
ALT I-II	147	25,148	0,000	ALT I-III	89	1,438	0,230
AST/ALT I-II	114	4,333	0,037	AST/ALT I-III	89	2,420	0,120
GGT I-II	147	68,354	0,000	GGT I-III	89	6,988	0,008
Sečnina I-II	147	53,686	0,266	Sečnina I-III	88	42,267	0,219
Urea I-II	147	53,686	0,266	Urea I-III	88	42,267	0,219
Kreatinin I-II	147	25,051	0,000	Kreatinin I-III	89	27,958	0,000
Creatinine I-II	147	25,051	0,000	Creatinine I-III	89	27,958	0,000

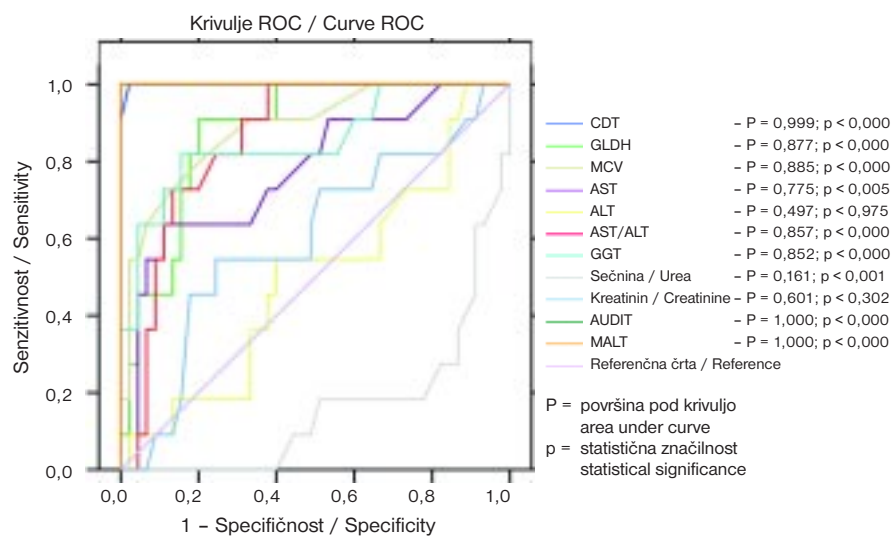

 Sl. 3. *Krivulja ROC za CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, količnik AST/ALT, GGT, sečnino, kreatinin, AUDIT in MALT.*

 Figure 3. *ROC curve for CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, AST/ALT quotient, GGT, urea, creatinine, AUDIT and MALT.*

površine pod krivuljo ROC so CDT, MALT in AUDIT izjemne, za AST, količnik AST/ALT, GGT, sečnino, GLDH in MCV pa odli na (Sl. 3).

Regressijska analiza ANOVA

Z regresijsko analizo smo hoteli preveriti diagnostično uporabnost vrednotenih označevalcev za sindrom odvisnosti od alkohola (Razpr. 5).

Rezultati izražena kažejo, da so spremenljivke aktivnosti AST ter vrednosti CDT in MCV statistično značilne in v našem primeru označevalci odvisnosti od alkohola ($p < 0,0005$).

Razpr. 5. Regresijska analiza ANOVA.

Table 5. ANOVA regression analysis.

Model	Vsota kvadratov Sum of squares	df	Povpre ni kvadrat Mean square	F	p
Regresija Regression	14,974	7	2,139	18,883	0,000

Model	Nestandardizirani koeficient Non-standardized coefficient	Standardizirani koeficient Standardized coefficient	t	p	
	B	Standardni odklon SD	Beta		
Konstanta / Constant	-0,246	0,634		-0,388	0,699
CDT I	0,186	0,031	0,506	5,965	0,000
MCV I	0,016	0,006	0,200	2,429	0,017
GGT I	0,022	0,012	0,136	1,782	0,078
AST I	0,217	0,109	0,247	1,996	0,049
ALT I	-0,129	0,094	-0,155	-1,381	0,170
Kreatinin I / Creatinine I	-0,003	0,003	-0,076	-1,135	0,259
GLDH I	0,000	0,000	-0,064	-0,736	0,464

Razpravljanje

V obeh skupinah so prevladovali moški, tudi sicer jih je več odvisnih od alkohola kot žensk. Razmerje med spoloma in povprečno starost sta bili prilagojeni razmerju v skupini odvisnih od alkohola. Povprečna starost odvisnih od alkohola 43,7 leta je bila pri akovanju. Običajno mora posameznik zmerno uživati alkoholne pijače vsaj 10 do 20 let, preden se odloči za zdravljenje. Toliko časa je približno tudi potrebno, da se razvijejo posledice zmerne pitja.

Ocena o povprečni tedenski količini alkohola je lahko samo informativna. Količina, ki jo ocenjuje zdravnik in odvisni od alkohola, ki je v prvi fazi zdravljenja običajno v t. i. psihološkem odporu. Toda večina je popila več kot 30 enot tedensko.

Aktivnost GLDH je bila izmerjena pri manjšem številu odvisnih od alkohola, ker smo jo prišli doleteti kasneje, ko smo odkrili nasprotujoče si podatke o njegovi diagnostični vrednosti odvisnosti od alkohola.

V študijo smo vključili le odvisne od alkohola na zdravljenju v bolnišnici. Tako je bilo mogoče najuinkoviteje zagotoviti nadzor nad morebitnim nadaljevanjem pitja po vključitvi v raziskavo. Vzroke za številni izpad v obeh kontrolnih merjenjih lahko pripišemo slabi motivaciji in uvidu za zdravljenje v prvih dveh tednih ter nezmožnost vzdrževanja abstinence v naslednjih 4 tednih. Izpad je bil velik, a glede na klinično prakso pri akovanju.

Srednje vrednosti MCV, sečnine in kreatinina so bile simetrično razporejene, medtem ko je bila pri ostalih označevalcih razporeditev nesimetrična z večino zvišanih in manjšim delom zelo zvišanih aktivnosti oz. vrednosti. Izjema je bila sečnina, pri kateri so bile vrednosti znižane, manj pa je bilo zelo znižanih vrednosti.

Med kontrolnimi osebami je bila le ena, ki je na obeh vprašalnikih dosegla rezultat, ki nakazuje tvegano pitje. Nekaj odvisnih od alkohola je vprašalnike izpolnjevalo izrazito subjektivno. Vprašalnik MALT se je v primerjavi z vprašalnikom AUDIT v našem primeru izkazal kot bolj sprejemljiv za uporabnika, saj so preiskovanci pri izpolnjevanju vprašalnika AUDIT pogosto prosili za pomoč. Tudi popravljanja zaradi nera-

zumevanja vprašanj je bilo več pri vprašalniku AUDIT. Tri kontrolne osebe so imele zvišano vrednost CDT in so bili verjetno zmerni pivci. Pri vseh laboratorijskih označevalcih so bile velike razlike med skrajnimi vrednostmi obeh skupin.

Po priakovanju so bile vse razlike v aktivnostih označevalcev statistično značilno zvišane, razen pri kreatininu.

S kinetiko normalizacije patoloških aktivnosti/vrednosti označevalcev smo preverili laboratorijsko kontrolno abstinence od alkohola. Za GLDH sta bili izvedeni le dve meritvi, ker ob tretji po 42 dneh nismo več priakovali patoloških aktivnosti zaradi kratke razpolovne dobe serumske GLDH. V prvih dveh tednih se aktivnosti/vrednosti CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, količnik AST/ALT in GGT statistično značilno znižajo, po 6 tednih pa CDT, GLDH, MCV, AST, ALT, količnik AST/ALT, GGT in kreatinin.

Kinetika spreminjanja količnika AST/ALT je za potrjevanje vzdrževanja abstinence nezanesljiva, ker se vrednost v prvih dveh tednih znižuje, nato pa narašča.

V prvih dveh tednih imajo CDT, GLDH, AST in GGT hitrejšo kinetiko normalizacije kot v naslednjih 4 tednih. Nasprotno pa se kinetika normalizacije MCV in ALT pospeši po dveh tednih abstinence. Ocenjujemo, da so hitrosti normalizacije MCV, AST, ALT in GGT za razliko od CDT ter GLDH individualno pogojene in zato zahtevajo večjo mero previdnosti pri vrednotenju v vsakodnevni praksi.

Po priakovanju sta bili specifičnosti obeh vprašalnikov visoki, prav tako občutljivost, saj so bile v raziskavo vključene že osebe z ugotovljeno motnjo. Kljub temu pa z vprašalnikom AUDIT nismo dosegli stopnje patognomoničnosti. Ponovno lahko ocenimo, da je vprašalnik MALT v našem primeru bolj zanesljiv kot vprašalnik AUDIT.

CDT, AST in kreatinin so izkazali visoko specifičnost, vendar je kreatinin zaradi nizke občutljivosti za diagnosticiranje sindroma odvisnosti od alkohola neuporaben. Tudi količnik AST/ALT je premalo specifičen in občutljiv kinetiki neuporaben.

MCV ima dokaj nizko specifičnost, toda visoko občutljivost, ki se nadaljuje tudi po dveh tednih. Njogo-

va visoka uporabnost je za nespecifičen označevalca presenetljiva. Ocenjujemo, da je uporaben v kombinaciji z drugimi označevalci, predvsem ob prisotnosti izključitvi ostalih diferencialnodiagnostičnih vzrokov za zvišane vrednosti MCV.

Uporabnost GGT, ALT in AST je v mejah pri akovane, ki se pojavljajo v literaturi. Specifičnost GLDH je podobna ostalim jetrnim encimom, medtem ko je nižja ob utljičnost verjetno posledica kratke razpolovne dobe in odvisna od doza, ki je minila od zadnjega uživanja alkohola.

Specifičnost CDT je bila nižja od pri akovane. Verjetno je razlog v odvisnih od alkohola oz. tveganih pivcih, ki jih v naboru kontrolnih oseb ni bilo mogoče diagnosticirati. Nasprotno je ob utljičnost pri akovane in ustrezna. Rezultati tudi v naši populaciji potrjujejo navedbe, da je CDT zanesljiv pripomoček v diagnosticiranju odvisnosti od alkohola, vendar ga ni mogoče uporabljati kot presejalni test. V primerjavi z ostalimi označevalci je najbolj zanesljiv v kontroli abstinence.

Preizkus s krivuljo ROC potrjuje odlično diagnostično uporabnost CDT, ki je boljša od ostalih, saj pokriva praktično celotno površino pod krivuljo. Zelo zanesljivi so tudi GLDH, MCV in GGT. GGT je splošno sprejet kot označevalca odvisnosti od alkohola, čeprav ima sorazmerno nizko ob utljičnost. Kot najbolj zanesljiva je splošno sprejeta kombinacija CDT in GGT. Toda v naši študiji se je kot najbolj zanesljiva pokazala kombinacija označevalcev CDT, MCV in AST. Sklepamo, da je v kliniki ni praktično pomen GGT morda celo precejšen oziroma je potrebno odvisnost od alkohola vrednotiti z vsaj tremi označevalci hkrati.

Zaključki

CDT je v primerjavi z ostalimi označevalci odvisnosti od alkohola, tudi v naši populaciji, bolj specifičen in ima tudi visoko ob utljičnost. Je pomemben pripomoček pri laboratorijskem vrednotenju odvisnosti od alkohola in tudi zanesljiv pri nadzoru abstinence, vendar samo v kombinaciji z ostalimi označevalci. V naši študiji se je najbolje izkazala kombinacija CDT z MCV in AST. Ni pa dovolj zanesljiv kot samostojen označevalca oz. kot označevalca v okviru presejalnih testov.

Okrajšave: ADH – alkohol-dehidrogenaza, ALT – alanin-aminotransferaza, AST – aspartat-aminotransferaza, AUDIT – Alcohol Use Disorder Identification Test, CAGE – Cut-down, Annoyed, Guilt, Eye-opener test, CDT – transferin z zmanjšanim deležem ogljikovih hidratov, GGT – gama-glutamilttransferaza, GLDH – glutamat dehidrogenaza, IFCC – International Federation of Clinical Chemistry, MALT – Muenchener Alkoholismustest, MAST – Michigan Alcohol Screening Test, MCV – povprečni volumen eritrocitov.

Literatura

1. ebašek-Travnik Z. Zloraba in odvisnost od psihoaktivnih drog. In: Tomori M, Zihel S. Psihiatrija. Ljubljana: Litera picta, Medicinska fakulteta; 1999. p. 137–68.
2. Kaplan HI, Sadock BJ. Alcohol related disorders. In: Kaplan HI, Sadock BJ. Synopsis of psychiatry. 8th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 1997. p. 391–407.
3. Whitfield JB. Diagnostic and monitoring investigations. In: Heather N, Peters TJ, Stockwell T. Alcohol dependence and problems. Chichester: Wiley; 2001. p. 227–50.
4. Štepec S. Alkoholna jetrna bolezen. In: Kocijan I, A, Mrevlje F, Štajer D. Interna medicina. Ljubljana: Litera picta; 2005. p. 589–91.
5. Kravos M, Maleši I, Levani S. Serum ADH levels in patients with mental disorders. Clin Chim Acta 2005; 361: 86–94.
6. Kravos M, Križaj B. Laboratorijska diagnostika sindroma odvisnosti od alkohola. In: Mili J, Pišljak M. Konferenca o medicini odvisnosti: Diagnosticiranje odvisnosti od alkohola na različnih nivojih zdravstva. Idrinja: Psihiatri na bolnišnica; 2006. p. 49–72.
7. Stamm D, Hansert E, Feuerlein W. Excessive consumption of alcohol in men as a biological influence factor in clinical laboratory investigations. J Clin Chem Clin Biochem 1984; 22: 65–77.
8. Stamm D, Hansert E, Feuerlein W. Detection and exclusion of alcoholism in men on the basis of clinical laboratory findings. J Clin Chem Clin Biochem 1984; 22: 79–96.
9. Piccinelli M, Tessari E, Bartolomasi D, Piasere O, Semenzin M, Garzotto N, Tansella M. Efficacy of the alcohol use disorders identification test as a screening tool for hazardous alcohol intake and related disorders in primary care: Validity study. BMJ 1997; 314: 420–4.
10. Feuerlein W, Ringer C, Kuefner H, Antons K. Diagnose des Alkoholismus: Der Muenchener Alkoholismus-Test (MALT). Muench Med Wochenschr 1977; 119: 1275–82.
11. Wick HD. Alkoholprobleme in der Hausarztpraxis – der Platz biologischer Marker. Schweizerische Rundschau fuer Medizin Praxis 1999; 88: 1711–4.
12. Arndt T. Carbohydrate-deficient Transferrin (Kohlehydrat-defizient Transferrin) – CDT. In: Thomas L. Labor und Diagnose. 6. Aufl. Frankfurt/Main: TH – Books Verlagsgesellschaft GmbH; 2005. p. 945–53.
13. Maleši I. Vpliv alkohola na vrednosti laboratorijskih preiskav in laboratorijska diagnostika odvisnosti. In: Zbornik predavanj. Ankaran, Celje, Maribor, Ormož: Slovensko združenje za klinično kemijo, 2002.
14. Schellenberg F, Mouray H. Carbohydrate deficient transferrin: What's new 20 years later? Annales de Biologie Clinique 2000; 58: 298–309.
15. Prezelj M, Zorec-Karlovšek M. %CDT-Transferin z zmanjšanim deležem ogljikovih hidratov v diagnostiki škodljive rabe alkohola. Farm Vestn 2000; 51: 385–6.
16. Arndt T, Gressner AM, Kropf J. Labordiagnostik und Kontrolle des Alkoholabusus. Die Medizinische Welt 1994; 4: 3–13.
17. Kanitz von RD, Wetterling T, Missler U. Carbohydrate deficient Transferrin (CDT) als Indikator zur Objektivierung eines pathologisch erhoehten Alkoholkonsums: Fortschritte der Diagnostik. Labor Aktuell 1993; 5: 5–8.
18. Helander A, Vabo E, Levin K, Borg S. Intra and interindividual variability of carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferrase and mean corpuscular volume in teetotalers. Clin Chem 1998; 44: 2120–5.
19. Fleming MF, Anton RF, Spies CD. A review of genetic, biological, pharmacological, and clinical factors that affect carbohydrate-deficient transferrin levels. Alcohol Clin Exp Res 2004; 28: 1347–55.
20. Anton RF, Stout RL, Roberts JS, Allen JP. The effect of drinking intensity and frequency on serum carbohydrate-deficient transferrin and gamma-glutamyl transferase levels in outpatient alcoholics. Alcohol Clin Exp Res 1998; 22: 1456–62.
21. Mitchell C, Simpson D, Chick J. Carbohydrate-deficient transferrin in detecting relapse in alcohol dependence. Drug Alcohol Dependence 1997; 48: 97–103.
22. Huseby NE, Nilssen O, Erfurth A, Wetterling T, Kanitz RD. Carbohydrate-deficient transferrin and alcohol dependency: Variation in response to alcohol intake among different groups of patients. Alcohol Clin Exp Res 1997; 21: 201–5.
23. Salaspuro M. Carbohydrate-deficient transferrin as compared to other markers of alcoholism: A systematic review. Alcohol 1999; 19: 261–71.

24. Kohler H, West A, Brinkmann B. Stability of carbodehydrate deficient transferrin (CDT) in stored blood samples. *International Journal of Legal Medicine* 2000; 113: 121–2.
25. Maleši I, Pregl M. Nekateri laboratorijske možnosti odkrivanja alkoholikov. *Zdrav Vestn* 1992; 61: 119–22.
26. Anton RF, Dominick C, Bigelow M, Westby C in collaboration with the CDTEct research group. Comparison of Bio-Rad %CDT TIA and CDTEct as laboratory markers of heavy alcohol use and their relationships with gamma-glutamyltransferase. *Clin Chem* 2001; 47: 1769–75.
27. Anton RF, Lieber C, Tabakoff B. Carbohydrate-deficient transferrin and gamma-glutamyltransferase for the detection and monitoring of alcohol use: Results from a multisite study. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 1215–22.
28. Mundle G, Ackermann K, Munkers J, Steinle J, Mann K. Influence of age, alcohol consumption and abstinence on the sensitivity of carbodehydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase and mean corpuscular volume. *Alcohol & Alcoholism* 1999; 34: 760–6.
29. Richards RH, Vreman HJ, Zager P, Feldman C, Blaschke T, Weiner MW. Acetate metabolism in normal human subjects. *Am J Kidney Dis* 1982; 2: 47–57.
30. Bendtsen P, Jones AW, Helander A. Urinary excretion of methanol and 5-hydroxy-tryptophol as biochemical markers of recent drinking in the hangover state. *Alcohol Alcohol* 1998; 33: 431–8.
31. Meerkerk GJ, Njoo KH, Bongers IM, Trienekens P, van Oers JA. Comparing the diagnostic accuracy of carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase and mean cell volume in a general practice population. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23: 1052–9.
32. Sillanaukee P, Aalto M, Seppä K. Carbohydrate-deficient transferrin and conventional alcohol markers as indicators for brief intervention among heavy drinkers in primary health care. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 892–6.
33. Golka K, Wiese A. Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) – a biomarker for long-term alcohol consumption. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2004; 7: 319–37.
34. Kravos M. Glutamat dehidrogenaza kot označevalca sindroma odvisnosti od alkohola [doktorsko delo]. Ljubljana: Medicinska fakulteta; 2007.
35. Moravec-Berger D. Mednarodna klasifikacija bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov za statistične namene. Deseta revizija (MKB-10), 1. knjiga. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije; 1995.
36. Committee on Reference Systems for Enzymes. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 631–4.
37. Committee on Reference Systems for Enzymes. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 718–24.
38. Osredkar J. Laboratorijske preiskave. In: Kocijan I, A, Mrevlje F, Štajer D. *Interna medicina*. Ljubljana: Litera picta; 2005. p. 1509–45.

Prispelo 2007-10-10, sprejeto 2007-12-13