

Uit de laboratoriumpraktijk

Enige ervaringen met de bepaling van koolhydraatdeficiënt transferrine in serum

M. H. de KEIJZER¹, G. D. KANT², F. A. J. T. M. van den BERGH¹ en I. VERMES¹

In dit artikel worden enige oriënterende ervaringen beschreven met een sedert kort ter beschikking gekomen test om overmatig alcoholgebruik te detecteren. Het betreft de bepaling van koolhydraatdeficiënte transferrines (CDTs) m.b.v. een RIA methode.

Van de volwassen Nederlandse bevolking zou ongeveer 10% problemen hebben met het gebruik van alcohol. Tevens is bekend dat individuen met een overmatig drinkpatroon zeer frequent het dagelijks aantal geconsumeerde eenheden alcohol bagatelliseren, zelfs in situaties die direct verband houden met de evaluatie van hun gezondheid. Vanwege de relatieve eenvoud en beschikbaarheid wordt meestal gebruik gemaakt van lever-enzymtesten of van het MCV (mean cellular volume) om inzicht te verkrijgen in het alcoholgebruik. Echter, de specificiteit en sensitiviteit hiervan t.a.v. het gebruik van alcohol bedragen hooguit 60 % (1).

Recent is een nieuwe methode ontwikkeld (2) waarvan geclaimd wordt dat de uitslag specifiek gerelateerd is aan de hoeveelheid ingenomen alcohol. CDTs zouden in grotere hoeveelheden dan normaal aangeemaakt worden tijdens perioden van overmatig alcoholgebruik, dwz 4 - 6 eenheden/dag, zijnde 50 - 80 g/dag, gedurende een aantal weken (3). Na alcohol-abstinentie neemt de concentratie van de CDTs af met een halfwaardetijd van ongeveer 10 dagen (4).

Transferrine, het ijzertransporterend proteïne in bloed, heeft vier koolhydraatzijketens, die alle eindigen in twee of drie moleculen sialzuur (N-acetylneuraminezuur). De isovormen, die in verband gebracht worden met alcoholmisbruik, bevatten minder sialzuur en zijn daardoor op grond van hun lading te scheiden. Er is hiervoor een aantal technieken ontwikkeld: isoelektrofocussing gevolgd door immunofixatie, Western blotting, zône-immunoelektroforese en isolatie m.b.v. kolommen met anionenwisselaar gecombineerd met een radioimmunoassay. Op deze laatste methode is de "CDTect" bepaling (Pharmacia Nederland, Woerden) gebaseerd.

Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Afdeling Interne Geneeskunde², Medisch Spectrum Twente, Enschede

Correspondentie: Dr. M. H. de Keijzer, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Academisch Ziekenhuis Nijmegen St Radboud, Geert Groteplein 8, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen. Ingekomen: 13.09.94

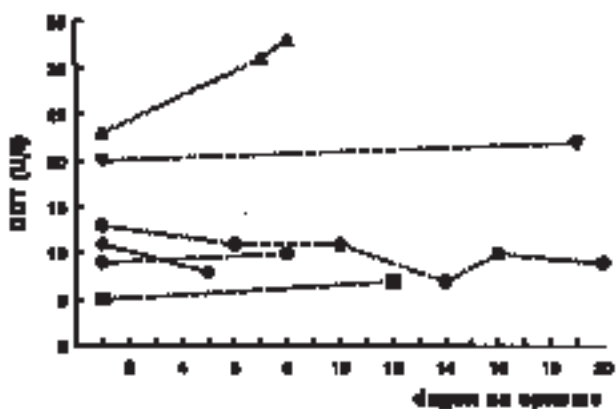
Wij hebben enig oriënterend onderzoek verricht naar de gebruikersvriendelijkheid en de analytische prestaties van de methode.

METHODEN

Het bepalen van de hoeveelheid CDTs gaat als volgt: Na verzadiging van 50 µl serum met ijzer(III)citraat wordt het monster op de geëquilibreerde microkolom gebracht en geëlueerd met buffer. Het normale transferrine blijft op de kolom achter. In het eluaat wordt een RIA-bepaling verricht met konijn antihumaan transferrine als antilichaam; vervolgens worden met ¹²⁵I-gelabelde schaap anti-konijn antilichamen de complexen neergeslagen. Na centrifugatie wordt de radioactiviteit in het precipitaat met behulp van een gammacounter gemeten. De hoeveelheid CDTs werd berekend op grond van een vijfpunts kalibratie-curve door gebruik te maken van bekende hoeveelheden humaan transferrine en wordt uitgedrukt in Units/l. De door de firma opgegeven normaalwaarden voor de CDT-concentratie bedragen < 20 U/l voor mannen en < 25 U/l voor vrouwen.

RESULTATEN

Longitudinale bepalingen van de CDT concentratie werden gedurende 5 tot 20 dagen in monsters van zes, ons onbekende patiënten verricht (figuur 1). Met uitzondering van één patiënt bleek de CDT-concentratie constant te zijn.



Figuur 1. Longitudinale bepalingen van de CDT-concentratie in een zestal patiënten. In het algemeen blijkt de intra-individuele variatie niet groot te zijn.

Tabel 1. CDT concentraties (in U/l) in 39 willekeurige patiënten.

	n	gem. \pm SD	range
Vrouwen	18	14 \pm 6	5 - 24
Mannen	21	11 \pm 3	7 - 19

De gemiddelde (within run) variatiecoëfficiënt is berekend bij een tweetal CDT-concentraties. Deze bedroeg 6,2 % bij 11 U/l (n = 33) en 4,9 % bij 31 U/l (n = 7).

In spijsersa van 42 willekeurige patiënten is de CDT-concentratie gemeten. Drie van de 42 personen (7 %) hadden een CDT-concentratie boven de door de firma opgegeven normaalwaarden (33, 41 resp. 48 U/l).

In de resterende 39 personen hebben wij waarden vastgesteld zoals in tabel 1 weergegeven.

DISCUSSIE EN CONCLUSIES

Analytisch gesproken voldoet de CDTEct-bepaling van Pharmacia: de variatiecoëfficiënten zijn redelijk en uit het longitudinale onderzoek blijkt de "within patient" variatie acceptabel. Ook in onze patiëntengroep blijkt dat de referentiewaarden voor vrouwen hoger liggen dan voor mannen. De prijs per bepaling is hoog, temeer daar de bepaling volgens de firma in duplo moet worden ingezet.

De sensitiviteit en specificiteit van de bepaling zijn volgens de literatuur groter dan 80 %, maar het betreft hier metingen in geselecteerde onderzoeksgroepen, zijnde zware alcoholgebruikers t.o.v. gezonde controlepersonen (5). Bij screeningsonderzoek in normale populaties blijkt de sensitiviteit sterk af te nemen (6,7). Daarnaast is gebleken dat de sensitiviteit lager is wanneer alleen vrouwen deel uitmaken van de onderzoeksgroep (8). De glycosylering van transferrine zou mogelijk beïnvloed kunnen worden door factoren als de hormoonhuishouding en/of ijzerstatus.

Recent is het "Carbohydrate-Deficient Glycoprotein Syndrome" (CDGS) (9) ontdekt, waarbij voornamelijk het zenuwstelsel degeneratieve afwijkingen vertoont. Dit zou, door de verhoogde concentratie van o.a. CDTs, kunnen leiden tot vals-positieve uitslagen. Ook in een kwart van de heterozygote dragers leidt dit tot permanent verhoogde CDT waarden, waardoor in 1 op de 300 tot 500 individuen een vals-positieve diagnose gesteld zou worden.

Samenvattend: wij hebben de CDT bepaling geëvalueerd. Hoewel de analytische parameters van de bepaling goed te noemen zijn, zijn de klinische specificiteit en de sensitiviteit van de bepaling, zoals opgegeven in diverse publikaties, waarschijnlijk alleen van toepassing in geselecteerde onderzoeksgroepen. Meer gegevens betreffende de specificiteit en sensitiviteit bij screenend onderzoek in goed gedefinieerde groepen zijn dan ook gewenst. Daarnaast verdient het mogelijke verband tussen een verhoogde CDT-concentratie en leverziekten nader onderzoek.

Literatuur

1. Mikas AA, Tavassoli M. Laboratory markers of ethanol intake and abuse: a critical appraisal. *Am J Med Sci* 1992; 303: 415-428.
2. Stibler H, Borg S, Joustra M. A modified method for the assay of carbohydrate deficient transferrin (CDT) in serum. *Alcohol* 1991; (Suppl 1): 451-454.
3. Stibler H, Kjellin KG. Isoelectric focussing and electrophoresis of the CSF proteins in tremor of different origin. *J Neurol Sci* 1976; 30: 269-285.
4. Jeppson J, Kristensson H, Fimiani C. Carbohydrate deficient transferrin quantified by HPLC to determine heavy consumption of alcohol. *Clin Chem* 1993; 39: 2115-2120.
5. Stibler H. Carbohydrate deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem* 1991; 37: 2029-2037.
6. Nystrom M, Perasalo J, Salaspuro M. Carbohydrate deficient transferrin (CDT) in serum as a possible indicator of heavy drinking in young university students. *Alcohol Clin Exp Res* 1992; 16: 93-97.
7. Nilssen O, Huseby NE, Hoyer G, Brenn T, Schirmer H, Forde OH. New alcohol markers - how useful are they in population studies: the Svalbard study 1988-1989. *Alcohol Clin Exp Res* 1992; 16: 82-86.
8. Anton R, Bear P. Two methods for measuring carbohydrate deficient transferrin in inpatient alcoholics and healthy controls compared. *Clin Chem* 1994; 40: 364-368.
9. Stibler H, Jaeken J, Kristiansson B. Biochemical characteristics and diagnosis of the carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Acta Paediatr Scand* 1991; suppl 375: 22-31.

Summary

The measurement of carbohydrate deficient transferrin in serum: some experiences. Keijzer MH de, Kant GD, Bergh FATJM van den and Vermes I. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 207-208.

This article describes some characteristics of a recently introduced method for the assay of carbohydrate deficient transferrin, a possible indicator of potentially harmful alcohol consumption.