

# Alkol Kullanım Bozukluğu, Siroz, Sistemik Lupus Eritematozus'lu Hastalarda Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin Seviyelerinin Belirlenmesi

## Determination of Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin Levels in Patients with Alcohol Use Disorders, Cirrhosis, Systemic Lupus Erythematosus

Yasin Öztürk<sup>1</sup>, Gökhan Tuna Öztürk<sup>2</sup>, Ömer Şakrak<sup>3</sup>, Erdal Işık<sup>4</sup>, Harun Erdal<sup>5</sup>, Hatice Paşaoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>5</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Carbohydrate-deficient transferrin (CDT), yapısında sialik asit içeren bir glikoprotein olup transferin içeriğindeki karbonhidratın azalmasıyla oluşur. Bu çalışmada alkol kullanım bozukluğu, siroz ve sistemik lupus eritematozuslu (SLE) hastalarda serum CDT düzeylerini ölçmeyi planladık. Böylece CDT'nin bu hastalıklarda, ilk tanı konulduğu dönemde bakılarak, erken tanı belirteci olarak kullanılabilirliğini göstermeyi amaçladık.

**Yöntemler:** Alkol kullanım bozukluğu olan 29 hasta, sirozlu 13 hasta, SLE'li 17 hasta ve 31 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Hasta gruplarında ve sağlıklı gönüllülerde serum CDT düzeyleri high performance liquid chromatography (HPLC) ile ölçülerek ortalamaları karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Serum CDT düzeyleri alkol kullanım bozukluğu, siroz ve SLE'li hastalarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulundu ( $p_1 < 0.001$ ,  $p_2 = 0.027$ ,  $p_3 = 0.001$ ).

**Sonuç:** Serum CDT düzeyleri alkol kullanım bozukluğu, siroz ve SLE şüphesi olan hastalarda tanıya yardımcı bir belirteç olarak kullanılabilir. (*Gazi Med J 2011; 22: 110-2*)

**Anahtar Sözcükler:** CDT, alkol bağımlılığı, siroz, SLE

**Geliş Tarihi:** 16.10.2011

**Kabul Tarihi:** 01.11.2011

### ABSTRACT

**Objective:** Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) is a glycoprotein that contains sialic acid and is formed by reduction of carbohydrates in transferrin structure. In this study we planned to measure levels of CDT in patients with alcohol use disorders, cirrhosis, systemic lupus erythematosus (SLE). In this way, by looking at the first period, we aimed to show the utility of CDT in these diseases as a marker for early diagnosis.

**Methods:** Twenty-nine patients with alcohol use disorders, 13 patients with cirrhosis, 17 patients with SLE and 31 healthy volunteers were included in the study. Serum CDT levels were measured by high performance liquid chromatography (HPLC) in all patients and healthy volunteers, and the means of the four groups were compared.

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Yasin Öztürk, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye Tel: +90 312 202 50 27 E-posta: inflacort\_12@hotmail.com

©Telif Hakkı 2011 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - Makale metnine [www.gazimedicaljournal.org](http://www.gazimedicaljournal.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2011 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at [www.gazimedicaljournal.org](http://www.gazimedicaljournal.org)

doi:10.5152/gmj.2011.24

**Results:** CDT levels in patients with alcohol use disorders, cirrhosis and SLE were determined as significantly high compared to the control group ( $p_1 < 0.001$ ,  $p_2 = 0.027$ ,  $p_3 = 0.001$ ).

**Conclusion:** The CDT level are useful as a diagnostic marker in patients with suspected alcohol use disorders, cirrhosis and SLE. (Gazi Med J 2011; 22: 110-2)

**Key Words:** CDT, alcohol dependence, cirrhosis, SLE

**Received:** 16.10.2011

**Accepted:** 01.11.2011

## GİRİŞ

Carbohydrate-deficient transferrin (CDT), yapısında sialik asit içeren bir glikoprotein olup transferrin içeriğindeki karbonhidratın azalmasıyla oluşur ve son zamanlarda karaciğer fonksiyonlarından bağımsız olarak, alkol kullananlarda seviyelerinin yükseldiğine dair çalışmalar yapılmaktadır (1). Transferrin karaciğerde yapılan ve salgılanan demir taşıyan bir glikoproteindir. Yoğun alkol kullanımı dönemlerinde transferrin içindeki karbonhidrat içeriğinin (sialik asit, galaktoz, N-Asetil glukozamin) azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (2, 3). Kronik alkol tüketiminin serum CDT düzeylerinin artmasına nasıl yol açtığı kesin olarak bilinmemekle birlikte hepatositlerde glikozil transferaz enzim eksikliği veya artmış sialidaz enzim aktivitesi ya da her ikisinin bir arada bu duruma neden olduğu düşünülmektedir (3).

Biz bu çalışmamızda etyolojilerinde oksidatif hasarın rol oynadığı düşünülen hastalıklar olan alkol kullanım bozukluğu, siroz ve sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında CDT düzeylerini ölçmeyi planladık. Böylece bu hastalıklarda CDT düzeylerinin tanıya yardımcı bir belirteç olarak kullanılabilirliğini ve şüpheli olgularda tanıya yardımcı olup olmayacağını göstermeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Yöntemler

Bu çalışmamıza, 2008-2009 yılları arasında, Psikiyatri, Genel Cerrahi, İç Hastalıkları ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon polikliniklerinde muayene olan veya bu bölümlere bağlı yataklı servislerde tedavi alan toplam 59 hasta ve 31 sağlıklı gönüllü katıldı. Çalışmamızda toplam dört grup vardı. Kontrol grubu; yaş ortalamaları 47.5 (39-65) olan, 20'si erkek, 11'i kadın toplam 31 gönüllüden oluşuyordu. Alkol bağımlısı grubu; yaş ortalamaları 50.6 (33-73) olan 26'sı erkek, 3'ü kadın toplam 29 hastadan, siroz grubu; yaş ortalamaları 52.9 (44-73) olan 8'i erkek, 5'i kadın toplam 13 hastadan, SLE grubu; yaş ortalamaları 47.5 (33-68) olan 3'ü erkek, 14'ü kadın toplam 17 hastadan oluşuyordu. Çalışma öncesi Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 25.12.2006 tarihli, 406 sayılı yerel etik kurul onayı alındı.

### Serum Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Toplam 90 adet hastamızdan, anlık olarak, antekübital venden 10 mL venöz kan örnekleri, düz biyokimya tüplerine alındı. Alınan numuneler güneş ışığından korunarak, oda ısısında, 3500 rpm'de, 10 dakika santrifüj edilerek şekilli elemanlarından ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri 1.5 mL'lik ependorf tüplere ayrıldı. Etiketleme işlemi yapıldıktan sonra, numuneler çalışma süresine kadar -80°C'de saklandı.

Alınan tüm hasta örneklerinde CDT seviyeleri çalışıldı.

### CDT Yüzdelerinin Ölçülmesi

1.5 mL'lik ependorf içerisine 1ml serum, 25 µL NaHCO<sub>3</sub> (500 mmol/L) ve 18 µL FeCl<sub>3</sub> (10 mmol/L) eklendi ve 20 saniye vortekste karıştırıldı. Daha sonra 6°C'de 12 saat inkübasyona bırakıldı. Üzerine 10 µL dextran sülfat (100 g/l) ve 50 µL CaCl<sub>2</sub> (1 mol/L) konuldu. Vortekle 20 saniye karıştırıldı. 6°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

1000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant HPLC (high performance liquid chromatography) sistemine verilmek üzere hazır hale getirilmiş oldu. 35 dakikalık çalışma süresinde analiz tamamlandı. Değerlendirme ve miktar belirlenmesi yüzde (%) alan esasına göre, kromatogramlarda otomatik olarak yapıldı.

Analiz çalışmalarına başlamadan HPLC sistemi pasivize edildi. Bunun için önce kolon sistemden çıkartıldı. Pasivizasyon işlemi akış hızı 1.5 ml/dak olarak ayarlandı. Sistemden ilk olarak 15 dakika HPLC grade su ile geçirildi. Daha sonra sırasıyla 2 propanol ve tekrar HPLC grade su ile yıkandı. Sistemden 30 dakika %15'lik nitrik asit geçirildi. Sistemden atıktaki pH, yıkama pH'ına denk gelinceye kadar su geçirildi. Bu yaklaşık 5 saat sürdü. Sistemi dengelemek için 15 dakika mobil faz B geçirildi (akış hızı (1.0 mL/dak). Sisteme kolon takıldı. Kolon dengelenmesi için sistemden düşük akış hızıyla başlayarak mobil faz B geçirildi. Yaklaşık 30 dakika da kolon dengelendi (base-line stabil hale geldi). 4 kez CDT standart solüsyon enjeksiyonu yapıldı. Piklerin alınma zamanları ve pik yüksekliklerinin tekrarlanabilirliğine bakıldı. Daha sonra numunelerin enjeksiyonuna başlandı.

Örnekteki analitin % konsantrasyonu aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\%CDT_{analit} = \frac{\text{alan}_{analit} \times 100}{\text{alan}_{total\ transferrin}}$$

analit: asialo-, ve disialo transferrin

total transferin: asialo-, disialo-, trisialo-, tetrasialo ve pentasialotransferrin

Gün içi tekrarlanabilirlik düzeyini tespit etmek için, aynı gün içerisinde ve günün değişik zamanlarında aynı örnek, ardı sıra 10 kez çalışıldı. Günler arası tekrarlanabilirlik için ise aynı örnek her gün 2 şer kez olmak üzere 10 gün boyunca çalışıldı. Çalışmalarda elde ettiğimiz değerler ortalama (mean) ± standart deviasyon (SD) ve değişim katsayısı (%CV)'lerine göre değerlendirildi.

### Sonuçların İstatistiksel Analizi

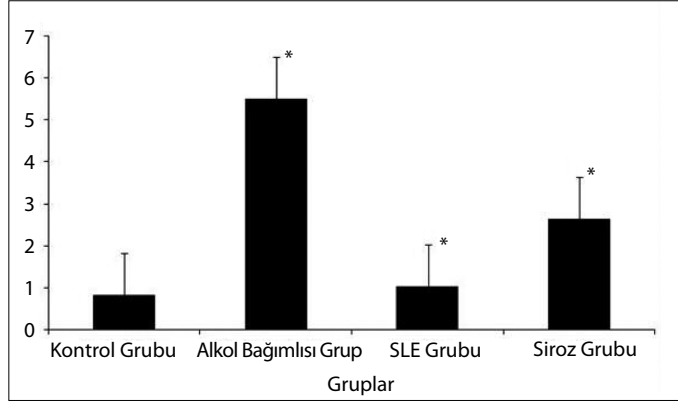
Tüm veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. İstatistiksel hesaplamalar ve grafiklerin çiziminde, istatistik paket programı SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Program, for windows 11.5) ile Microsoft Excel (for windows XP) programları kullanıldı. Bulguların değerlendirilmesinde, siroz ve SLE'li hastaların sayısının 20'nin altında olması nedeniyle, non-parametrik Kruskal-Wallis testi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. P < 0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Yapılan çalışma sonucu elde ettiğimiz sonuçlara göre en yüksek serum CDT konsantrasyonları alkol bağımlısı grupta (%5.48±4.33) tespit edildi ve bu değer kontrol grubuna (%0.82±0.20) göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksekti (p < 0.001). SLE ve siroz gruplarının CDT değerleri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti (sırasıyla %1.03±0.34, p=0.027; %2.63±3.15, p=0.001) (Tablo 1) (Şekil 1).

**Tablo 1. Serum Karbonhidrat Defisit Transferrin (CDT) ölçüm sonuçları**

|   | Kontrol Grubu<br>(n=31) | Alkol Bağımlısı<br>(n=29) <sup>a</sup> | SLE Grubu<br>(n=17)      | Siroz Grubu<br>(n=13)      |
|---|-------------------------|--|--------------------------|----------------------------|
| CDT % konsantrasyonları   | 0.82±0.20               | 5.48±4.33 <sup>a</sup>                 | 1.03±0.34 <sup>a,b</sup> | 2.63±3.15 <sup>a,b,c</sup> |
| * <sup>a</sup> : p<0.05, ilgili değer kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; <sup>b</sup> : p<0.05, ilgili değer alkol bağımlısı grup ile karşılaştırıldığında; <sup>c</sup> : p>0.05, ilgili değer SLE grubu ile karşılaştırıldığında |                         |  |                          |                            |

**Şekil 1.** Serum Karbonhidrat Defisit Transferrin Konsantrasyonları\*<sup>a</sup>: Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark var (p<0.05)

## TARTIŞMA

Çalışmamızda alkol kullanım bozukluğu, siroz ve SLE'li hastaların tanısına yardımcı olması ve bu hastalıkların tanısını daha erken koymak amacı ile serum CDT seviyelerini ölçmeyi ve bulduğumuz değerleri kontrol grubu ile kıyaslamayı amaçladık.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada alkol kullanım bozukluğu olan hastalarda kontrol grubuna kıyasla serum CDT seviyeleri anlamlı bir şekilde yüksekti. Werle ve arkadaşları (4) yapmış oldukları çalışmada alkol kullanım bozukluğu olan 51 hastada, alkol kullanmayan karaciğer hastalığı olan 20 hastada ve sağlıklı 30 kişiden oluşan kontrol grubunda serum CDT seviyelerini araştırmışlar ve bu çalışmalarının sonucunda en yüksek CDT seviyelerini alkol kullanım bozukluğu olan kişilerde tespit etmişlerdir. Buna ek olarak aynı araştırmacılar yine aynı çalışmalarında CDT seviyelerini ölçmek için HPLC ve RIA (radyoimmünassay) yöntemlerini karşılaştırmışlar ve HPLC ile elde edilen kromatogramın izotransferrin tespitinin görünebilir bir sonucu olması nedeni ile HPLC metodunun bağımsız bir yöntem olduğunu da yayınlamışlardır.

Toshimi ve arkadaşları (5) yapmış oldukları bir çalışmada serum CDT seviyelerini, alkolik hepatit ile non-alkolik steatohepatitis (NASH) ayırımı için kullanmışlar ve çalışmalarının sonunda serum CDT seviyelerini alkolik hepatitli hastalarda cut off değerinden daha yüksek, NASH grubunda ise daha düşük bulmuşlardır. Araştırmacılar çalışmalarının sonucunda serum CDT seviyelerini her iki grubun ayırımında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Nalpas ve arkadaşlarının (6) yapmış oldukları karşılaştırmalı bir çalışmada araştırmacılar, karaciğer hastalığı olmayan aşırı alkol kullanan hastaların tanısında CDT'nin GGT'ye kıyasla daha yüksek efikasite ile daha yararlı olabileceğini; CDT'nin karaciğer hastalığı olmayan hastalarla orta derecede karaciğer hastalığı olan alkolik kişilerin ayırıcı tanısında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmamızda alkol kullanım bozukluğu olan hastaların dışında sirozlu hastalarımızda da serum CDT seviyelerini anlamlı bir şekilde yüksek bulduk. Bu bulgularımız da literatürle uyumlu idi. Arndt ve arkadaşları (7) 48 primer biliyer sirozlu hastayı değerlendirdikleri çalışmalarında, HPLC yöntemiyle yapılan ölçümde bir hastanın; immün

nefelometri yöntemiyle yapılan ölçümde yedi hastanın CDT seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Berlakovich ve arkadaşları (8) alkolik siroza bağlı ortotopik karaciğer transplantasyonu yapılan hastalarda alkol relapsını görüntülemek için CDT'nin çok faydalı bir marker olduğunu yaptıkları çalışmalarında göstermişlerdir.

Çalışmamızdaki diğer bir hasta grubumuz olan SLE'li hastalarımızda da serum CDT seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek bulduk. Literatürde bu konuda bir çalışmaya rastlamadık.

Sonuç olarak, alkol kullanım bozukluğunu tespit etmek amacı ile son yıllarda kullanılmaya başlanmış olan CDT oldukça hassas bir belirteçtir (duyarlılık %41, özgüllük %93) ve hastaların doğru ve erken tanısından maliyeti azaltmaya kadar pek çok faydaları vardır (9). Bununla birlikte bizim çalışmamızda olduğu gibi hem başka hastalıklarda da artabilmekte hem de çok fazla olmasa da yalancı pozitiflikler verebilmektedir. Oksidan ve antioksidan mekanizma pek çok hastalığın patogeneğinde yer aldığı gibi alkol kullanım bozukluğu, siroz ve SLE ile de ilişkilidir fakat siroz ve SLE'nin evrelerine göre oksidatif durum değişebilmektedir. Tüm bu parametrelerin daha yaygın kullanılabilmesi, normal eşik değerlerin belirlenmesi, rutin laboratuvara girebilmesi için farklı evrelerdeki ve daha fazla sayıda hastada, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Mırsal H, Kalyoncu ÖH, Pektaş Ö. Alkol kullanımının biyokimyasal belirleyicileri ve klinik uygulamaları. Bağımlılık Dergisi 2002; 3: 165-72.
2. Stibler H, Borg S. Carbohydrate composition of serum transferrin in alcoholic patients. Alcohol Clin Exp Res 1986; 10: 61-4. [CrossRef]
3. Xin Y, Lasker JM, Lieber CS. Serum carbohydrate-deficient transferrin: mechanism of increase after chronic alcohol intake. Hepatology 1995; 22: 1462-8. [CrossRef]
4. Werle E, Seitz GE, Kohl B, Fiehn W, Seitz HK. High-performance liquid chromatography improves diagnostic efficiency of carbohydrate-deficient transferrin. Alcohol Alcohol 1997; 32: 71-7.
5. Ohtsuka T, Tsutsumi M, Fukumura A, Tsuchishima M, Takase S. Use of Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin Values to Exclude Alcoholic Hepatitis from Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Pilot Study. Alcohol Clin Exp Res 2005; 29: 236S-9S. [CrossRef]
6. Nalpas B, Hispard E, Thépot V, Pot S, Dally S, Berthelot P. A comparative study between carbohydrate-deficient transferrin and gamma-glutamyltransferase for the diagnosis of excessive drinking in a liver unit. J Hepatol 1997; 27: 1003-8. [CrossRef]
7. Arndt A, Meier U, Nauck M, Gressner AM. Primary biliary cirrhosis is not a clinical condition for increased carbohydrate-deficient transferrin: Experience with four independent CDT analysis methods. Clinica Chimica Acta 2006; 372: 184-7. [CrossRef]
8. Berlakovich GA, Windhager T, Freundorfer E, Lesch OM, Steininger R, Mühlbacher F. Carbohydrate deficient transferrin for detection of alcohol relapse after orthotopic liver transplantation for alcoholic cirrhosis. Transplantation 1999; 67: 1231-5. [CrossRef]
9. Gül S, Akvardar Y, Taş G, Tuncel P. The diagnostic validity of screening tests and laboratory markers in alcohol use disorders. Turk Psikiyatri Derg 2005; 16: 3-12.