

Tradycyjne i nowe wskaźniki biologiczne spożycia alkoholu w ilościach szkodliwych dla zdrowia

Traditional and new biological markers of harmful alcohol drinking

Ewa Czech¹, Marek Hartleb²

¹Zakład Radiodiagnostyki i Medycyny Nuklearnej

Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiej AM w Katowicach

²Katedra i Klinika Gastroenterologii Śląskiej AM w Katowicach

Abstract – Traditional medical anamnesis is often an ineffective tool in recognition of actual alcohol consumption. Harmful alcohol drinking leads to metabolic derangements, resulting in an emergence in blood of variable chemical compounds. These compounds may play a role of biological indicators of alcoholism. Hepatic enzymes (gamma-glutamyltransferase, aspartate aminotransferase) and mean corpuscular volume of erythrocytes showed unacceptably low diagnostic sensitivity and specificity. At present, more specific diagnostic tests are investigated, which ultimately would be able to discriminate between alcohol abuse and occasional drinking and would be adequate to monitor adherence to abstinence. Within spectrum of highest interest are serum concentrations of sialic acid, carbohydrate deficient transferrin, β -hexosaminidase, platelet monoaminoxidase and index sialic acid/apolipoprotein J. In this review we have given a general overview of traditional and newly conceived diagnostic tests, applied solely or in combinations.

Key words: alcohol abuse, biomarkers

Streszczenie – Tradycyjny wywiad lekarski jest często niewystarczającym narzędziem w ustaleniu rzeczywistego spożycia alkoholu. Szkodliwe dla zdrowia spożywanie alkoholu prowadzi do zmian metabolicznych, których konsekwencją jest pojawianie się we krwi różnych związków chemicznych. Związki te mogą spełniać rolę biologicznych wskaźników uzależnienia od alkoholu. Aktywności enzymów wątrobowych (gamma-glutamylotransferaza, aminotransferaza asparaginianowa) oraz ocena objętości krwinki czerwonej okazały się biomarkerami o niewystarczającej czułości i swoistości diagnostycznej. Aktualnie poszukuje się bardziej specyficznych testów diagnostycznych, które byłyby w stanie odróżnić nadużywanie od sporadycznego spożycia alkoholu oraz wykazywałyby przydatność w monitorowaniu abstynencji. Obecnie w centrum zainteresowania znalazły się takie biowskaźniki jak: stężenie kwasu sjałowego, desjałowanej transferyny, β -heksozaminidazy, monoaminooksydazy płytkowej oraz indeks kwas sjałowy/apolipoproteina J. W niniejszej pracy dokonano przeglądu rutynowych oraz niedawno opracowanych testów diagnostycznych stosowanych pojedynczo lub w kombinacjach.

Słowa kluczowe: nadużywanie alkoholu, biowskaźniki

WSTĘP

Jednym z ważniejszych problemów współczesnego świata o zasięgu społecznym, ekonomicznym i zdrowotnym jest uzależnienie od alkoholu. Liczba osób uzależnionych od alkoholu jest przeszło dwukrotnie wyższa niż uzależnionych od środków odurzających i halucynogennych. W Polsce nadużywanie alkoholu osiągnęło status choroby społecznej, a zatrucia alkoholem zajmują czołowe miejsce wśród wszystkich zatruc. Następstwem przewlekłego spożywania alkoholu są patologiczne zmiany somatyczne i psychiczne.

Wiele osób, w obawie przed negatywną reakcją społeczną, skrzętnie ukrywa fakt nadużywania alkoholu, co znacznie utrudnia rozpoznanie tej choroby. Z tego powodu poszukuje się narzędzi diagnostycznych pozwalających na powiązanie somatycznego problemu medycznego z ukrywanym przez pacjenta alkoholizmem. Pomiar stężenia etanolu w próbkach krwi, powietrza wydechowego lub moczu jest rozpowszechnioną metodą wykrywania alkoholu w organizmie, metodą jednak skuteczną tylko w krótkim okresie po jego spożyciu. Testy diagnostyczne ocenia się pod kątem ich przydatności w badaniach przesiewowych, monitorowaniu abstynencji oraz w różnicowaniu sporadycznego spożywania alkoholu od przewlekłego. Z założenia testy te powinny być szeroko dostępne, możliwe do zaakceptowania przez pacjenta, a zarazem diagnostycznie wiarygodne. Powinny znaleźć zastosowanie nie tylko w medycynie klinicznej, ale również w orzecznictwie, np. dla oceny spożycia alkoholu podczas ciąży, u kierowców lub dla potwierdzenia przydatności do zawodów społecznego zaufania.

Aktualnie stosowane laboratoryjne biowskaźniki, związane ze skutkami szkodliwego picia, podzielono na dwie grupy, tj. takie które wskazują genetyczne, biochemiczne oraz behawioralne predyspozycje do alkoholizmu oraz te które są wynikiem zmian biochemicznych spowodowanych obecnością w organizmie etanolu (markery czynnościowe) (1–3). Markery czynnościowe, stanowiące przedmiot niniejszej pracy, dostarczają informacji nie tylko o bieżącym wpływie alkoholu na stan zdrowia pacjenta (np. ostre zatrucie), ale także o ilości i sposobie spożywania alkoholu (sporadyczne, przewlekłe). Do tej grupy zalicza się zarówno pośrednie produkty biotransformacji etanolu, jak również jego związki z innymi substancjami. Tak więc markery czynnościowe są związkami, których nie znajduje się wcale lub tylko w śladowych ilościach u osób niepijących alkoholu. Należą do nich m.in. acetaldehyd i jego addukty z hemoglobina czy dopamina (salsolinol), produkty beztlenowego metabolizmu etanolu, estry etylowe kwasów tłuszczowych, fosfatydyloetanol, glukuronid etylu oraz siarczan etylu. Ważne znaczenie diagnostyczne mogą również mieć zmiany biochemiczne, polegające na wzroście lub spadku aktywności niektórych enzymów (zwłaszcza wątrobowych) lub na odszczepieniu kwasu sjałowego od łańcuchów węglowodanowych niektórych związków chemicznych (tabela 1). Z kolei markery predyspozycji do uzależnienia od alkoholu muszą spełniać przynajmniej 3 kryteria: (i) podlegać dziedziczeniu, (ii) mieć bezpośredni związek z nadużywaniem alkoholu w obrębie badanej populacji,

Tabela 1.
Wartości wskaźników spożycia alkoholu w zależności od sposobu picia
Indices of alcohol consumption in relation to mode of drinking

Wskaźnik	Wartości referencyjne	Spożywanie sporadyczne		Spożywanie regularne		Czas do normalizacji w okresie abstynencji	Literatura
		kobiety	mężczyźni	kobiety	mężczyźni		
GGT (U/L)	7–50	18 ± 10,6	26 ± 17,2	109 ± 134	133 ± 179	2–6 tyg.	Sillanaukee 1999 (4)
MCV (μm ³)	80–97	91 ± 4,0	89 ± 4,1	96 ± 9,8	96 ± 5,5	40 dni	Sillanaukee 1999 (4)
ALT (U/L)	0–35	23 ± 20,8	26 ± 17,0	47 ± 34,8	49 ± 41,3	2–5 tyg.	Sillanaukee 1999(4) Hietala 2006 (5)
AST (U/L)	0–38	24 ± 9,4	21 ± 6,1	56 ± 35,6	51 ± 40,9	7 dni	Sillanaukee 1999 (4)
CDT (U/L)	♀ < 25 ♂ < 20	19 ± 4,0	12 ± 2,6	33 ± 17,3	34 ± 22,5	2–4 tyg.	Sillanaukee 1999 (4)
SA (mg/dl)	61–65	60 ± 10,4	64 ± 16,0	82 ± 13,5	85 ± 19,8	nieznany	Sillanaukee 1999 (4)
MAO-B (nmol/mg pr/h)	7,5–20	7,1 ± 3,1	5,5 ± 2,1	6,1 ± 2,1	5,0 ± 2,4	4–8 tyg.	Anthenelli 1998 (6)
β-Hex (U/L)	18,8 ± 3,3	16,8 ± 4,5		35 ± 11,6		7–10 dni	Kärkkäinen 1990 (7)

Legenda: GGT – γ-glutamylotransferaza, MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, ALT – aminotransferaza L-alaninowa, AST – aminotransferaza asparaginowa, CDT – transferyna desjalowana, SA – kwas sjałowy, MAO-B – izoforma B monoaminooksydazy płytkowej, β-Hex – β-heksozaminidaza

(iii) nie wykazywać zależności od innych czynników endogennych i egzogennych. Zalicza się do nich niektóre postacie polimorficzne dehydrogenazy alkoholowej (ADH) i aldehydowej (ALDH), płytkowej cyklazy adenylowej oraz grupy neuroprzekazników, takich jak kwas gamma-aminomasłowy (GABA), dopamina, beta-endorfina, serotonina, neuropeptyd Y i noradrenalina.

W niniejszej pracy omówiono zarówno tradycyjne i łatwo dostępne laboratoryjne testy diagnostyczne, jak i nowoczesne i dopiero ostatnio wprowadzane badania, charakteryzujące się wysoką czułością oraz specyficznością w wykrywaniu uzależnienia od alkoholu.

TRADYCYJNE WSKAŹNIKI BIOLOGICZNE SPOŻYWANIA I NADUŻYWANIA ALKOHOLU

Gamma glutamylotransferaza

Gamma glutamylotransferaza (EC 2.3.2.1, γ -glutamylotranspeptydaza, GGT, γ -GT) jest enzymem glikoproteinowym przenoszącym resztę γ -glutamyłową, obecnym we wszystkich komórkach organizmu z wyjątkiem miocytów. Szczególnie wysokie stężenia GGT występują w hepatocytach, komórkach nabłonkowych przewodów żółciowych i cewek nerkowych oraz w mięszu prostaty, co może tłumaczyć wyższą aktywność surowiczą tego enzymu u mężczyzn niż u kobiet. Uważa się, że wysokie stężenia GGT w wątrobie i nerkach chronią te narządy przed stresem oksydacyjnym. W nerkach antyoksydacyjna rola GGT może polegać na reabsorpcji zwrotnej glutationu przez cewkowe komórki nabłonkowe (8).

GGT jest najstarszym ze znanych wskaźników biochemicznych spożywania i nadużywania alkoholu. Przewlekłe spożywanie alkoholu indukuje syntezę enzymów mikrosomalnych wątroby, do których należy GGT. Wykazano, że przewlekłe spożywanie 40 g etanolu na dobę podwyższa aktywność GGT w surowicy krwi o 15% u kobiet i 20% u mężczyzn. Z kolei dawka 60 g etanolu zwiększa aktywność surowiczą tego enzymu u przedstawicieli obojga płci odpowiednio o 30% i 40–50% (9). Okres półtrwania GGT wynosi 14–26 dni, a więc normalizacja aktywności surowiczej enzymu następuje po 4–5 tygodniach od zaprzestania konsumpcji alkoholu.

Na aktywność surowiczą GGT ma wpływ wiele innych czynników niż alkohol (10, 11). Aktywność tego enzymu wzrasta w sposób zdecydowany w przypadku zaburzeń przepływu żółci, a w mniejszym stopniu w procesach nowotworzenia komórek oraz bliznowacenia, np. mięśnia sercowego po dokonanych zawałach. Wiele leków wykazuje właściwości pobudzania produkcji tego enzymu (np. leki przeciwpadaczkowe, erytromycyna) lub jego hamowania (fenofibraty, tabletki antykoncepcyjne). Z powyższych powodów oznaczanie GGT jako pojedynczego parametru nie wnosi wiele do diagnostyki uzależnienia od alkoholu (tabela 2).

Tabela 2.

Czułość i swoistość laboratoryjnych wskaźników skutków biochemicznych sporadycznego (SS) i regularnego (SR) spożywania alkoholu oraz znane czynniki mające wpływ na wartość tych wskaźników
 Sensitivity and specificity of laboratory markers of biochemical effects of occasional (SS) and chronic (SR) alcohol consumption and known factors influencing these markers

Wskaźnik	Czułość (%)		Swoistość (%)		Czynniki mające wpływ na wartość wskaźnika
	SS	SR	SS	SR	
GGT Reynaud 2000 (12) Schwan 2004 (13)	42 56	80 86	76 77	76 77	Choroby wątroby i przewodów żółciowych, otyłość, cukrzyca, nowotwory, blizny po zawale mięśnia sercowego, leki indukujące układ mikrosomalny wątroby, płeć, wiek, palenie tytoniu, pochodzenie etniczne
MCV Reynaud 2000 (12)	24	63	96	96	Niedobór kwasu foliowego i witaminy B ₁₂ , niedożywienie, choroby wątroby i szpiku kostnego, niedobór żelaza, krwawienia z przewodu pokarmowego, hemoglobino-patie, hiperglikemia, niedoczynność tarczycy, chemioterapia, niektóre leki, palenie tytoniu, płeć, wiek
ALT Pönniö 1999 (14)		22 ♀ 52 ♂		100 ♀ 90 ♂	Otyłość, niektóre leki, wiek, kawa
AST Conigrave 2002 (15)		25 ♀ 45 ♂		97 ♀ 90 ♂	Choroby wątroby i przewodów żółciowych, choroby mięśni, nadmierny wysiłek, krwawienie z przewodu pokarmowego, otyłość, wiek, niektóre leki i zioła, pochodzenie etniczne
CDT Reynaud 2000 (12) Schwan 2004 (13)	67 80	85 91	97 83	97 83	Choroby wątroby i przewodów żółciowych, polimorfizm transferyny, pochodzenie etniczne, wiek, płeć, niskie stężenie żelaza, niektóre leki i sterydy, palenie tytoniu, duże zabiegi chirurgiczne
Kwas sjałowy Romppanen 2002 (16) Sillanaukee 1999 (4) Sillanaukee 1999 (4)		51 58 ♀ 48 ♂		100 96 ♀ 81 ♂	Choroby nowotworowe (zwłaszcza rak sutka i leukemia u dzieci), ostre infekcje bakteryjne, posocznica, choroby sercowo-naczyniowe, podwyższone ciśnienie krwi, cukrzyca, otyłość, wiek
β-Hex Kärkkäinen 1990 (7)	86	86	95	98	Choroby wątroby, nadciśnienie, cukrzyca, nadczynność tarczycy, pylica krzemowa, zawał mięśnia sercowego, ciąża, wiek
MAO-B płytkowa					Palenie tytoniu, płeć, rasa, leki, używki (marihuana, kokaina), choroby psychiczne

Legenda: GGT – γ -glutamylotransferaza, MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, ALT – aminotransferaza L-alaninowa, AST – aminotransferaza asparaginowa, CDT – transferyna deszjalowana, β -Hex – β -hexozaminidaza, MAO-B – izoforma B monoaminooksydazy płytkowej

Objętość krwinki czerwonej

U osób regularnie pijących alkohol obserwuje się zwiększoną objętość krwinek czerwonych. Patogeneza makrocytozy u alkoholików wydaje się być złożona. U większości osób nadużywających alkoholu makrocytozie nie towarzyszy obniżone stężenie kwasu foliowego, ani niedokrwistość. W badaniu Maruyamy i wsp. (17) stężenie kwasu foliowego poniżej 2,5 mg/ml stwierdzono zaledwie u 17% pacjentów z alkoholową marskością wątroby. Niedobór kwasu foliowego może być spowodowany niedoborami dietetycznymi i/lub uszkodzeniem kosmków jelitowych. Wiadomo też, że sam etanol działa mielotoksycznie, zmniejszając liczbę komórek szpikowych oraz powodując wakuolizację erytroblastów. Z hematologicznego punktu widzenia mielotoksyczność etanolu może przypominać efekty toksyczne chloramfenikolu (8). Makrocytoza towarzysząca chorobom wątroby może być także związana z zaburzoną syntezą lipidów, wchodzących w skład błon komórkowych lub z uszkodzeniem erytrocytów w przekrwionej śledzionie. U niektórych osób z alkoholową marskością wątroby pojawiają się strukturalnie nieprawidłowe erytrocyty pod postacią akantocytów lub stomatocytów. Etanol może być także czynnikiem odpowiedzialnym za wystąpienie niedokrwistości sideroblastycznej, a przyczyną tego zjawiska jest jego antagonistyczne działanie wobec fosforanu pirydoksalu (kofaktora biosyntezy hemu).

Wartość diagnostyczna zwiększonej objętości krwinki czerwonej jest wyższa u kobiet niż u mężczyzn (czułość ok. 40%) i zwiększa się wraz z wiekiem badanych (18). Makrocytoza jest też mało specyficznym wskaźnikiem nadużywania alkoholu, bowiem zjawisko to obserwuje się u około 70% osób powyżej 70 roku życia niepijących alkoholu. Czas życia krwinki czerwonej wynosi około 120 dni, stąd nawet intensywne spożywanie alkoholu nie powoduje początkowo wzrostu jej objętości. Objętość krwinki czerwonej nie nadaje się też do monitorowania abstynencji, bo makrocytoza utrzymuje się jeszcze długo po odstawieniu alkoholu.

Aminotransferazy

Aminotransferaza asparaginianowa (EC 2.6.1.1, AST, AspAT, SGOT; surowicza transaminaza glutamino-oksaloacetonowa) oraz aminotransferaza L-alaninowa (EC 2.6.1.2., ALT, ALAT, SGPT; surowicza transaminaza glutamino-pirogronianowa) przenoszą grupy aminowe z aminokwasów na α -ketokwasy. Wyższe niż u Europejczyków i białych Amerykanów aktywności aminotransferaz stwierdzono u ludzi zdrowych zamieszkujących południową Azję, Brazylię, Afrykę i Meksyk. Dotychczas nie wiadomo, czy zjawisko to jest wynikiem różnic genetycznych czy wpływu środowiska (19, 20). Aminotransferazy są czułymi wskaźnikami uszkodzenia hepatocytów. Najwyższą aktywność AST wykazano w mitochondriach, natomiast ALT w cytozolu komórek wątroby. W skład surowiczego AST wchodzi 2 izoenzymy: mitochondrialny (mAST) oraz cytozolowy (cAST). Okres półtrwania ALT wynosi 47 ± 10 godzin, a AST 17 ± 5 godzin, jednak dla mAST przekracza on

87 godzin. ALT w odróżnieniu od AST jest enzymem swoistym dla wątroby. Poza wątrobą wysokie stężenia AST stwierdza się w mięśniu sercowym, mięśniach szkieletowych, nerkach, mózgu, leukocytach i erytrocytach.

Aminotransferazy są mniej czułym wskaźnikiem sporadycznego picia etanolu niż GGT, bowiem nie obserwuje się wtedy znaczącego wzrostu aktywności tych enzymów. Badania na zdrowych ochotnikach wykazały, że spożywanie 60 g etanolu dziennie przez kolejne 5 tygodni podwyższało bardzo nieznacznie aktywność surowiczą aminotransferaz. Enzymy te są jednak czułymi wskaźnikami uszkodzenia wątroby w przebiegu uzależnienia od alkoholu. W przypadku prostego stłuszczenia wątroby aktywność aminotransferaz bywa prawidłowa lub nieznacznie podwyższona, natomiast w przypadku alkoholowego zapalenia wątroby wartość ta może wzrastać nawet do 500 U/l. Wyższe wartości sugerują obecność dodatkowej lub innej etiologii uszkodzenia wątroby, np. polekowej, autoimmunologicznej lub wirusowej (8). Proporcja AST do ALT powyżej 2 wskazuje w 90% przypadków na alkoholową chorobę wątroby. W badaniach Nybloma i wsp. (21), przeprowadzonych wśród 439 osób uzależnionych od alkoholu, współczynnik AST/ALT w okresie abstynencji wynosił $1,0 \pm 0,6$, a w trakcie używania alkoholu i rozwoju alkoholowego zapalenia wątroby wzrastał do $2,6 \pm 1,9$. Autorzy wskazują, że u osób nadużywających alkoholu, lecz nie cierpiących na alkoholową chorobę wątroby wartość wskaźnika AST/ALT nie musi przewyższać jedności. U zdrowych osobników AST znajdujący się we krwi w ponad 90. procentach pochodzi z frakcji cytozolowej, natomiast u pijących regularnie – z zasobów mitochondrialnych tego enzymu. Stosując technikę immunochemiczną wykazano 90-procentową czułość oznaczeń mitochondrialnej izoformy AST w wykrywaniu uzależnienia od alkoholu. Można było zwiększyć niską swoistość tego badania, obliczając indeks mitochondrialnej do całkowitej aktywności AST (22, 23).

NOWE WSKAŹNIKI BIOLOGICZNE SPOŻYWANIA I NADUŻYWANIA ALKOHOLU

Kwas sjałowy

Kwasy sjałowe (SA) tworzą rodzinę ponad 40 acetylowych pochodnych kwasu neuraminowego, z których najbardziej rozpowszechnionym w organizmie człowieka jest kwas N-acetyloneuraminowy. SA jest związany z nieredukcyjnym końcem łańcucha węglowodanowego glikoprotein i glikolipidów, obecnych w płynach ustrojowych i błonach komórkowych. Do biologicznych funkcji SA należą m.in. udział w transporcie błonowym, regulacja wrażliwości receptorów błonowych oraz przepuszczalności błon podstawnych kłębuszków nerkowych. Podwyższone stężenia SA obserwuje się w chorobach nowotworowych jako wynik zaburzenia procesów glikozylacji w trakcie syntezy węglowodanów w komórkach guza.

Przewlekłe spożywanie alkoholu powoduje desjalizację, czyli odszczepienie kwasu sjałowego od transferyny i innych glikoprotein (16, 24). W związku z tym stężenie SA jest wyższe u osób uzależnionych od alkoholu niż u niepijących, molekularne

mechanizmy odpowiedzialne za jego wzrost nie są jednak jeszcze znane. Być może, jak uważają niektórzy badacze, zjawisko to jest wynikiem poalkoholowego hamowania aktywności transferaz glikozylowych w aparacie Golgiego oraz pobudzenia aktywności sjalidazy, znajdującej się w cytozolu i błonach komórkowych (25, 26).

W przeciwieństwie do klasycznych wskaźników biochemicznych, stężenie SA w surowicy nie zależy od uszkodzenia wątroby. Z badań porównawczych wynika, że po 3-tygodniowej abstynencji spadek stężenia SA jest mniejszy niż desjalowanej transferyny (CDT) i GGT. Pönniö i wsp. (14) wykazali, że stężenie SA w ślinie (30-krotnie niższe niż w surowicy krwi) jest znamienne wyższe u osób uzależnionych niż u pijących alkohol sporadycznie, co stwarza możliwości nieinwazyjnego diagnozowania uzależnienia od alkoholu. Nie wykazano natomiast korelacji między spożywaniem alkoholu a stężeniem SA w moczu.

Indeks kwas sjałowy/apolipoproteina J

Apolipoproteina J (ApoJ) została wykryta w większości płynów fizjologicznych, a obecność ApoJ mRNA stwierdzono w wątrobie, mózgu, jądrach, jajnikach, sercu, śledzionie i płucach. ApoJ jest 70-kDa białkiem zbudowanym z 2 różnych podjednostek, których 30% masy stanowią węglowodany. Dokładna funkcja tego białka nie jest dobrze znana. W osoczu ApoJ jest związana z subfrakcjami lipoprotein o wysokiej gęstości HDL₂ i HDL₃. Białko to przede wszystkim bierze udział w osoczymym transporcie cholesterolu oraz w programowanej śmierci komórki. Jedna cząsteczka ludzkiej ApoJ, wyizolowanej z HDL, posiada aż 28 reszt kwasu sjałowego, a więc znacznie więcej niż transferyna (4–6 cząsteczek). Pierwsze badania przeprowadzone na szczurach (27) wykazały redukcję zawartości kwasu sjałowego w cząsteczce ApoJ w miarę czasu spożywania etanolu (obniżony indeks SA/ApoJ). Wartość indeksu SA/ApoJ u ludzi zależy od długości i ilości spożywanego etanolu. Dawka dobowo 60 g etanolu stosowana przez 30 dni prowadzi do 50% obniżenia tego indeksu w lipoproteinach HDL osocza (28).

Przyczyną spadku indeksu kwasu sjałowego może być wzrost aktywności sjalidazy, biorącej udział w deglikozylacji białek lub/i spadek aktywności transferazy sjałowej. Sugeruje się również zaburzenia wątrobowego wydzielania glikoprotein z retencją w aparacie Golgiego końcowych cukrów łańcucha. Abstynencja trwająca 2–3 tygodnie prowadzi do normalizacji indeksu kwasu sjałowego.

Transferyna z niedoborem kwasu sjałowego

Transferyna jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej 80 000, która może wiązać 2 atomy trójwartościowego żelaza. Węglowodany stanowią 5,3% wagowe cząsteczki transferyny i składają się z 2 identycznych łańcuchów bocznych, zawierających N-acetyloglukozaminę, mannozę, galaktozę oraz kwas sjałowy (N-acetyloneuraminowy). Kwas sjałowy, posiadający silny ładunek ujemny, nadaje cząsteczce charakter kwaśny. W zależności od liczby cząsteczek tego kwasu, transferyna tworzy

izoformy o różnych wartościach punktu izoelektrycznego (pI). Odszczepienie kwasu sjałowego prowadzi do podwyższenia pH środowiska (około 0,1 na jedną cząsteczkę) oraz wzrostu pI. Liczba reszt kwasu sjałowego w cząsteczce transferyny determinuje istnienie 4 podstawowych izoform: o pI 5,3 (5 reszt), pI 5,4 (4 reszty), pI 5,6 (3 reszty) oraz pI 5,7 (2 reszty). Pozostałe 4 izoformy, występujące w stężeniu nie przekraczającym 5% ogólnej puli tego związku, to transferyna o pI 5,1 (7 reszt), pI 5,2 (6 reszt), pI 5,8 (1 reszta) oraz pI 5,9, czyli cząsteczka pozbawiona kwasu sjałowego (asjałotransferyna).

W 1976 roku Stibler i Kjellin (29) wykryli w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym osób z objawami alkoholowego uszkodzenia mózdzku strukturalnie nieprawidłowe formy transferyny, z całkowitym lub częściowym niedoborem kwasu sjałowego. Dalsze badania osób uzależnionych od alkoholu wykazały, że stężenia transferyny posiadającej 2 reszty kwasu sjałowego są u alkoholików podwyższone prawie 10-krotnie, a u niektórych osób pojawia się izoforma całkowicie pozbawiona kwasu sjałowego (transferyna desjałowana; *carbohydrate-deficient transferrin*; CDT). W 1979 roku po raz pierwszy wytypowano do roli markera nadużywania alkoholu izoformy transferyny pozbawione kwasu sjałowego lub zawierające jedną lub dwie jego cząsteczki (30).

Vesterberg i wsp. (31), stosując metodę izoelektrycznego ogniskowania na agarozie, wyznaczyli proporcje transferyny o pI 5,7 do transferyny całkowitej. W grupie osób niepijących alkoholu wskaźnik ten w surowicy krwi wynosił od 0,8 do 4,1, a u uzależnionych oscylował w granicach 2,7–9,8. Z kolei Helander i wsp. (32), stosując technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), określili proporcję poszczególnych izoform transferyny w surowicy osób zdrowych spożywających alkohol sporadycznie oraz osób od niego uzależnionych. Stwierdzili, że u osób niepijących regularnie główną formą była transferyna z 4 cząsteczkami kwasu sjałowego (około 80% puli tego związku), udział transferyny z 5 cząsteczkami wynosił 10–15%, z trzema – 5%, dwoma – 0,5–2% oraz z jedną – 0–0,2%. Asjałotransferyna pojawiała się wówczas, gdy wartość transferyny z 2 cząsteczkami kwasu przekraczała 2% i dotyczyła wyłącznie osób spożywających duże ilości alkoholu. Asjałotransferyny nie stwierdzono w kontrolnej grupie osób zdrowych.

Swoistość transferyny desjałowanej w rozpoznawaniu uzależnienia od alkoholu ocenia się na 92,2–100%. Z kolei czułość diagnostyczna tego badania u osób spożywających około 40 g etanolu dziennie wynosiła zaledwie 55%, lecz wzrastała do 100% w przypadku konsumpcji ponad 70 g etanolu (33). Desjałowana transferyna uchodzi za najbardziej swoisty wskaźnik laboratoryjny uzależnienia od alkoholu. Długi okres półtrwania transferyny o pI 5,7 (około 10 dni) i asjałotransferyny (około 15 dni) można wykorzystywać do wykrywania uzależnienia jeszcze w trzecim tygodniu od zaprzestania picia alkoholu (30, 33). Przyczynami obecności we krwi transferyny desjałowanej, nie związanymi z alkoholem, mogą być: wrodzony zespół zaburzenia metabolizmu glikoprotein, rak wątroby, przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C, a także genetyczny wariant transferyny, znany jako D1 (34). Obecność wariantu D1 wykryto u około 1% osób rasy negroidalnej, u mniej niż 1% białych Amerykanów

oraz u ponad 2% północnych Europejczyków (9). Pojedyncze przypadki nieznacznego podwyższenia stężenia nietypowych izoform transferyny opisano u osób z zaburzeniami neuro-psychiatrycznymi (35).

β -heksozaminidaza

Pod koniec lat 80. w surowicy osób uzależnionych od alkoholu stwierdzono zwiększone stężenia enzymów lizosomalnych, a zwłaszcza β -heksozaminidazy (β -Hex), znanej także jako N-acetylo- β -D-glukozaminidaza (EC 3.2.1.52b, β -Hex). Ludzka β -Hex jest reprezentowana przez grupę glikoproteinowych izoenzymów, które uszeregowane według zmniejszającej się wartości punktu izoelektrycznego oznaczono jako Hex B, I₁, I₂, P, A, i S. Izoenzymy β -Hex są zbudowane z 2 różnych łańcuchów polipeptydowych α i β . W surowicy osób nadużywających alkoholu stwierdzono podwyższony udział dwóch izoenzymów Hex B i P, w skład których wchodzi tylko łańcuchy polipeptydowe β (36, 37).

Wzrost stężenia β -Hex we krwi zaobserwowano już po 10 dniach spożywania etanolu w dawce 60 g dziennie. Okres biologicznego półtrwania enzymu waha się od 2 do 4 dni. Po 6 dniach abstynencji stwierdza się jeszcze stężenia wyższe o około 25% od wartości wyjściowej (7). U osób uzależnionych stężenie β -Hex jest przeszło 2-krotnie wyższe w porównaniu ze spożywającymi alkohol sporadycznie. Jednak już po 2 dniach abstynencji stężenie tego związku zaczyna się obniżać, lecz dopiero po miesiącu osiąga wartość stężenia u ludzi zdrowych (38). Wartość stężenia β -Hex nie zależy od płci badanych.

Wykazano, że u osób uzależnionych stężenie β -Hex w moczu jest podwyższone, ale po okresie około 2 tygodni abstynencji – powraca do wartości referencyjnych (39, 40). Oznaczanie β -Hex ma duże znaczenie w nadzorowaniu trzeźwości kobiet ciężarnych (możliwość wystąpienia zespołu alkoholizmu płodowego) (41), a także w obserwacji klinicznej osób uzależnionych od alkoholu i opiatów, włączonych do programu leczenia metadonem (42).

β -Hex jest usuwana z krążenia przez komórki śródbłonna naczyń zatokowych i komórki Browicz-Kupffera. Mechanizmy indukujące poalkoholowy wzrost stężenia β -Hex w surowicy nie są jasne. Przyczyną może być zwiększona aktywność makrofagów, procesy włóknienia wątrobowego, jak również zaburzone wydzielanie tego enzymu do żółci (7). Etanol i jego metabolity mogą także zwiększać przepuszczalność błon lizosomalnych, powodując nadmierne uwalnianie enzymu do płynów pozakomórkowych, a następnie do krwi. Zwraca się również uwagę na podwyższoną syntezę enzymów lizosomalnych w trakcie przewlekłego spożywania alkoholu.

Monoaminooksydaza płytkowa

Monoaminooksydaza płytkowa (MAO, EC 1.4.3.4) jest mitochondrialną flawoproteiną, katalizującą tlenową deaminację endo- i egzogennych związków aminowych, w tym katecholamin i indolamin presynaptycznych zakończeń nerwowych. Enzym ten zlokalizowany jest na zewnętrznej błonie mitochondrialnej i występuje

w 2 postaciach, oznaczonych literami A i B, które różnią się specyficznością substratową, wrażliwością inhibicyjną i dystrybucją tkankową. U ludzi MAO-B występuje głównie w płytkach krwi oraz w mózgu. W licznych badaniach u osób uzależnionych stwierdzono obniżenie aktywności MAO-B we krwi oraz mniejsze stężenie tego enzymu w mózgu w badaniach pośmiertnych (43, 44). Wskazuje się jednak na ograniczoną swoistość diagnostyczną tego markera, inhibitorem MAO-B jest bowiem nikotyna (45).

Interpretacja przyczyn zmniejszonej aktywności MAO-B u osób uzależnionych od alkoholu jest trudna, ponieważ zjawisko to stwierdzono także u ich dzieci, co sugeruje obecność czynników genetycznych. Bergen i wsp. (46) wykazali, że u osób ze znacznie obniżoną aktywnością MAO-B abstynencja powoduje tylko przejściowe podwyższenie aktywności enzymu, osiągającej najwyższą wartość (porównywalną z grupą kontrolną) około 10 dnia abstynencji. W następnych tygodniach, w trakcie 2 miesięcy obserwacji, aktywność MAO-B sukcesywnie spada. Tak więc, oznaczanie aktywności surowiczej MAO-B po przynajmniej 2-miesięcznej abstynencji może być swoistym wskaźnikiem uzależnienia od alkoholu. Przyczyny przejściowego podwyższenia aktywności MAO-B nie zostały wyjaśnione. Mogą one być związane z chwilowym wzrostem uwalniania katecholamin do krwi, obserwowanym w okresie wczesnej abstynencji lub produkcji nowych płytek krwi, zawierających wyższą aktywność MAO-B.

Stosowanie paneli biowskaźników

Dotychczas nie znaleziono pojedynczego testu laboratoryjnego, który z jednej strony wykrywałby uzależnienie od alkoholu, a z drugiej oceniał związek spożycia alkoholu z uszkodzeniem narządów. Z tego powodu istnieje tendencja do łączenia badań przesiewowych w postaci samoopisowych ankiet i kwestionariuszy (CAGE, MAST, AUDIT itp.) z panelami wskaźników laboratoryjnych (47). Użycie kombinacji markerów zwiększa obiektywność oceny, lecz z drugiej strony powiększa koszty diagnostyki oraz zmniejsza swoistość diagnostyczną takiego testu (vide tabela 3). Równoczesne zastosowanie 5 parametrów biochemicznych (AST, ALT, MCV, cholesterol HDL/całkowity) wiązało się z 91% czułością oraz 96% swoistością różnicowania alkoholików od osób pijących sporadycznie, lecz tylko z 72% czułością rozpoznawania osób nadużywających alkoholu (50). Hartz i wsp. (51), oznaczając we krwi aż 10 parametrów (chlor, sód, proporcja bilirubiny bezpośredniej do całkowitej, azot mocznikowy, HDL, fosfor, płytki krwi, liczba monocytów, AST, średnie stężenie hemoglobiny w krwince), odróżniali osoby uzależnione od osób spożywających etanol sporadycznie z 95% czułością diagnostyczną. Sillanaukee i wsp. (49) na podstawie analizy badań laboratoryjnych wykonanych u 1412 pacjentów zaproponowali prostszy i jednocześnie tańszy algorytm oceny uzależnienia od alkoholu. Obejmuje on tzw. test γ -CDT ($= 0,8 \ln [GGT (U/l)] + 1,3 \ln [\%CDT]$), wymagający oznaczenia aktywności γ -GGT i stężenia CDT. Za pomocą tego testu rozpoznawano uzależnienie od alkoholu z czułością 75% i swoistością 93% u mężczyzn oraz u kobiet odpowiednio – 68% i 96%.

Tabela 3.

Czułość i swoistość paneli laboratoryjnych złożonych z 2–3 wskaźników konsekwencji biochemicznych sporadycznego i regularnego spożywania alkoholu

Sensitivity and specificity of laboratory panels combining 2–3 markers to indicate biochemical effects of occasional and chronic alcohol consumption

Kombinacje testów	Czułość (%)		Swoistość (%)		Literatura
	Spożywanie sporadyczne	Spożywanie regularne	Spożywanie sporadyczne	Spożywanie regularne	
CDT + GGT	86	96	74	74	Reynaud 2000 (12)
CDT + MCV	70	94	93	93	Reynaud 2000 (12)
GGT + MCV	54	90	75	75	Reynaud 2000 (12)
CDT + GGT O ₃ +O ₂		61		81	Conigrave 2002 (15)
		86		68	
CDT+GGT+MCV O ₃ +O ₂		70			Sillanaukee 1998 (18)
		69			
SA + CDT O ₃ +O ₂		76		91	Sillanaukee 1999 (4)
		73		81	
SA + GGT O ₃ +O ₂		77		91	Sillanaukee 1999 (4)
		74		81	
SA + CDT + GGT O ₃ +O ₂		89		86	Sillanaukee 1999 (4)
		100		81	
β-Hex + GGT		100		83	Stowell 1997 (48)
GGT + AST		71			Kärkkäinen 1990 (7)
β-Hex + GGT + AST		95			Kärkkäinen 1990 (7)
β-Hex + MCV		94		82	Stowell 1997 (48)
β-Hex + CDT		100		80	Stowell 1997 (48)
AST + ALT O ₃ +O ₂		12			Sillanaukee 1998 (18)
		11			
GGT-CDT (γCDT) O ₃ +O ₂ +O ₂		96		97	Hietala 2006 (5)
		89		98	
		68		96	
		96		93	

Legenda: GGT – γ -glutamylotransferaza, MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, ALT – aminotransferaza L-alaninowa, AST – aminotransferaza asparaginowa, CDT – transferyna desialowana, SA – kwas sjałowy, MAO-B – izoforma B monoaminooksydazy płytkowej, β -Hex – β -heksosaminidaza

PODSUMOWANIE

Skrętnie ukrywany przez wiele osób fakt nadużywania alkoholu zmusza do poszukiwania narzędzi diagnostycznych pozwalających na powiązanie somatycznego problemu medycznego z uzależnieniem od alkoholu. Aktualnie stosowane biowskaźniki szkodliwego picia alkoholu podzielono na dwie grupy: te które wskazują genetyczną skłonność do alkoholizmu oraz takie które są wynikiem zmian

biochemicznych spowodowanych obecnością w organizmie etanolu (markery czynnościowe).

Większość rutynowo stosowanych markerów czynnościowych, takich jak GGT, AST i makrocytoza, ma niską swoistość diagnostyczną, a więc może być przyczyną rozpoznania nie istniejącego alkoholizmu. Na wartość tych badań mają wpływ czynniki konstytucjonalne i demograficzne, jak wiek, płeć, masa ciała oraz pochodzenie etniczne, a także zaburzenia transportu żółci, obecność procesu zapalno-martwiczego w wątrobie oraz spowodowane alkoholem uszkodzenia trzustki, układu krwiotwórczego i kosmków jelitowych. Mimo tych zastrzeżeń, z punktu widzenia dostępności i czułości diagnostycznej korzystanie z tych badań w ocenie uzależnienia od alkoholu jest szeroko polecane. Badaniem o najwyższej swoistości diagnostycznej i czułości zależnej od ilości spożywanego alkoholu jest desjalowana transferyna. Badanie to posiada wysoką wartość w różnicowaniu alkoholowej od nie-alkoholowej etiologii uszkodzenia wątroby. Jeszcze większe nadzieje wiąże się z oceną deficytu cząsteczek kwasu sjałowego w obrębie apolipoproteiny J. Nowymi biowskaźnikami o jeszcze słabo poznanej przydatności klinicznej są β -heksozaminidaza i monoaminooksydaza płytkowa. Poza rozpoznawaniem nadużywania alkoholu, biowskaźniki mogą być także pomocne do monitorowaniu abstynencji alkoholowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Lakshman R, Tsutsumi M, Ghosh P, Anni H, Nikolaeva O, Israel Y, Anton R, Lesch O, Helender A, Eriksson G, Jeppson J-O, Marmillot P, Rao M (2001) Alcohol biomarkers: clinical significance and biochemical basis. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 25, 67S–70S.
2. Farren C, Tipton K (1999) Trait markers for alcoholism: clinical utility. *Alcohol & Alcoholism*, 34, 649–665.
3. Peterson K (2004/2005) Biomarkers for alcohol use and abuse: a summary. *Alcohol Research and Health*, 28, 30–38.
4. Sillanaukee P, Pönniö M, Seppä K (1999) Sialic acid: new potential marker of alcohol abuse. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 23, 1039–1043.
5. Hietala J, Koivisto H, Anttila P, Nimelä O (2006) Comparison of the combined marker GGT-CDT and the conventional laboratory markers of alcohol abuse in heavy drinkers, moderate drinkers and abstainers. *Alcohol & Alcoholism*, 41, 528–533.
6. Anthenelli R, Tipp J, Li T-K, Magnes L, Schuckit M, Rice J, Daw W, Nurnberger J (1998) Platelet monoamine oxidase activity in subgroups of alcoholics and controls: results from collaborative study on the genetics of alcoholism. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 22, 598–604.
7. Kärkkäinen P, Poikolainen K, Salaspuro M (1990) Serum β -hexosaminidase as a marker of heavy drinking. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 14, 187–190.
8. Conigrave K, Davies P, Haber P, Whitfield J (2003) Traditional markers of excessive alcohol use. *Addiction*, 98 (supl. 2), 31–43.
9. Sharpe P (2001) Biochemical detection and monitoring of alcohol abuse and abstinence. *Annals of Clinical Biochemistry*, 38, 652–664.
10. Puukka K, Hietala J, Koivisto H, Anttila P, Bloigu R, Nimelä O (2006) Age-related changes on serum GGT activity and the assessment of ethanol intake. *Alcohol & Alcoholism*, 41, 522–527.

11. Rauchenzauner M, Kountchev J, Ulmer H, Pechlaner C, Bellmann R, Wiedermann C, Joannidis M (2005) Disturbances of electrolytes and blood chemistry in acute alcohol intoxication. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 117, 83–91.
12. Reynaud M, Schellenberg F, Loiseux-Meunier M, Schwan R, Maradeix B, Planche F, Gillet C (2000) Objective diagnosis of alcohol abuse: compared values of carbohydrate-deficient transferrin (CDT), γ -glutamyl transferase (GGT), and mean corpuscular volume (MCV). *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 24, 1414–1419.
13. Schwan R, Loiseux M-N, Schellenberg F, Albuissou E, Favre J-D, Rigaud A, Llorca P-M, Gillet C, Reynaud M (2004) Multicenter validation study of the % CDT TIA Kit in alcohol abuse and alcohol dependence. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 28, 1331–1337.
14. Pönniö M, Alho H, Heinälä P, Nikkari S, Sillanaukee P (1999) Serum and saliva levels of sialic acid are elevated in alcoholics. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 23, 1060–1064.
15. Conigrave K, Degenhardt L, Whitfield J, Saunders J, Helander A, Tabakoff B (2002) CDT, GGT, and AST as markers of alcohol use: The WHO/ISBRA collaborative project. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26, 332–339.
16. Romppanen J, Punnonen K, Anttila P, Jacobsson T, Blake J, Niemelä O (2002) Serum sialic acid as a marker of alcohol consumption: effect of liver disease and heavy drinking. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26, 1234–1238.
17. Maruyama S, Hirayama C, Yamamoto S, Koda M, Udagawa A, Kadowaki Y, Inoue M, Sagayama A, Umeki K (2001) Red blood cell status in alcoholic and non-alcoholic liver disease. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 138, 332–337.
18. Sillanaukee P, Aalto M, Seppä K (1998) Carbohydrate deficient transferrin and conventional alcohol markers as indicators of brief intervention among heavy drinkers in primary health care. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 22, 892–896.
19. Stewart S (2002) Racial and ethnic differences in alcohol-associated aspartate aminotransferase and γ -glutamyltransferase elevation. *Archives of Internal Medicine*, 16, 2236–2239.
20. Wickramasinghe SN, Corridan B, Izaguirre J, Hasan R, Marjot DH (1995) Ethnic differences in the biological consequences of alcohol abuse: a comparison between south Asian and European males. *Alcohol & Alcoholism*, 30, 675–680.
21. Nyblom H, Berggren U, Balldin J, Olsson R (2004) High ALT/AST ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. *Alcohol & Alcoholism*, 39, 336–339.
22. Nalpas R, Poupon RE, Vassault A, Hauzanneau P, Sage Y, Schellenberg F, Lacour B, Berthelot P (1989) Evaluation of mAST/tAST ratio as a marker of alcohol misuse in a non-selected population. *Alcohol & Alcoholism*, 35, 415–419.
23. Nilssen O, Huseby NE, Hoyer G, Brenn T, Schrimmer H, Forde OH (1992) New alcohol markers – how useful are they in population studies: the Svalbard Study 1988–89. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 16, 82–86.
24. Javors M, Johnson B (2003) Current status of carbohydrate deficient transferrin, total serum sialic acid, sialic acid index of apolipoprotein J and serum β -hexosaminidase as markers for alcohol consumption. *Addiction*, 98 (supl. 2), 45–50.
25. Pönniö M, Alho H, Nikkari ST, Olsson U, Rydberg U, Sillanaukee P (1999) Serum sialic acid in a random sample of the general population. *Clinical Chemistry*, 45, 842–1849.
26. Pönniö M, Sillanaukee P, Franck J (2002) Serum sialic acid levels are increased during relapse to alcohol drinking: a pilot study. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26, 1365–1367.
27. Ghosh P, Hale E, Lakshman R (1999) Long-term ethanol exposure alters the sialylation index of plasma apolipoprotein J (Apo J) in rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 23, 720–725.
28. Ghosh P, Hale E, Lakshman MR (2001) Plasma sialic-acid index of apolipoprotein J (SIJ): a new alcohol intake marker. *Alcohol*, 25, 173–179.
29. Stibler H, Kjellin K (1976) Isoelectric focusing and electrophoresis of the CSF proteins in tremor of different origins. *Journal of Neurology Sciences*, 30, 269–285.

30. Stibler H (1991) Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clinical Chemistry*, 37, 2029–2037.
31. Vesterberg O, Petren S, Schmidt D (1984) Increased concentrations of a transferrin variant after alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta*, 141, 33–39.
32. Helander A, Husa A, Jeppson J (2003) Improved HPLC method for carbohydrate-deficient transferrin in serum. *Clinical Chemistry*, 49, 1881–1890.
33. Jeppsson J, Kristensson H, Fimiani C (1993) Carbohydrate-deficient transferrin quantified by HPLC to determine heavy consumption of alcohol. *Clinical Chemistry*, 39, 2115–2120.
34. Fleming M, Anton R, Spies C (2004) A review of genetic, biological, pharmacological, and clinical factors that affect carbohydrate-deficient transferrin levels. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 28, 1347–1355.
35. Storey E, Mack U, Powell L, Holliday JW (1985) Use chromatofocusing to detect a transferrin variant in serum of alcoholic subjects. *Clinical Chemistry*, 31, 543–545.
36. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M, Moberg A (1991) Serum β -hexosaminidase isoenzyme: a sensitive marker for alcohol abuse. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 15, 549–552.
37. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M, Alling C (1995) Increased and time-course variations in β -hexosaminidase isoenzyme B and carbohydrate-deficient transferrin in serum from alcoholics and similar. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 19, 452–456.
38. Wehr H, Czartoryska B, Górska D, Matsumoto H (1991) Serum β -hexosaminidase and α -mannosidase activities as markers of alcohol abuse. *Alcohol, Clinical and Experimental Research*, 15, 13–15.
39. Taracha E, Habrat B, Woźniak P, Walkowiak J, Szukalski B (2001) The activity of beta-hexosaminidase (uHex) and gamma-glutamyl-transferase (uGGT) in urine as non-invasive markers of chronic alcohol abuse: I. Alcohol-dependent subjects. *World Journal of Biological Psychiatry*, 2, 184–189.
40. Wehr H, Habrat B, Czartoryska B, Górska D, Woronowicz B (1995) Aktywność β -heksozaminidazy w moczu jako marker nadużywania alkoholu u osób uzależnionych. *Psychiatria Polska*, 29, 689–696.
41. Niemiec KT, Raczyński P, Laskowska-Klita T, Czerwińska B, Zawartka-Bielas A, Leibschang J, Pawłowska A (2003) Oznaczanie aktywności beta-heksozaminidazy oraz gamma-glutamylotranspeptydazy w moczu jako markerów spożycia alkoholu przez kobiety ciężarne – doniesienie wstępne. *Medycyna Wieku Rozwojowego*, 7, 629–638.
42. Taracha E, Habrat B, Baran H, Chmielewska K, Walkowiak J, Szukalski B (2002) The activity of beta-hexosaminidase (uHex) and gamma-glutamyl-transferase (uGGT) in urine as non-invasive markers of chronic alcohol abuse: I. Opiate-dependent subjects receiving methadone substitution. *World Journal of Biological Psychiatry*, 3, 44–49.
43. Faraj B, Davis D, Camp V, Mooney A Jr, Holloway T, Barika G (1994) Platelet monoamine oxidase activity in alcoholics, alcoholics with drug dependence, and cocaine addicts. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 18, 1114–1120.
44. Hallman J, Knorrning A, Knorrning L, Orelund L (1990) Clinical characteristics of female alcoholics with low platelet monoamine oxidase activity. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 14, 227–231.
45. Coccini T, Castoldi A, Gandini C, Randine G, Vittadini G, Baiardi P, Manzo L (2002) Platelet monoamine oxidase B activity as a state marker for alcoholism: trend over time during withdrawal and influence of smoking and gender. *Alcohol & Alcoholism*, 37, 566–572.
46. Berggen U, Fahlke C, Balldin J (2000) Transient increase platelet monoamine oxidase B activity during early abstinence in alcoholics: implications for research. *Alcohol & Alcoholism*, 35, 377–380.
47. Wetterlin T, Kanitz R, Rumpf H, Hapke U, Fischer D (1998) Comparison of CAGE and MAST with the alcohol markers CDT, γ -GT, ALAT, ASAT and MCV. *Alcohol & Alcoholism*, 33, 424–430.

48. Stowell L, Stowell A, Garret N, Robinson G (1997) Comparison of serum β -hexosaminidase isoenzyme B activity with serum carbohydrate-deficient transferrin and other markers of alcohol abuse. *Alcohol & Alcoholism*, 32, 703–14.
49. Sillanaukee P, Olsson U (2001) Improved diagnostic classification of alcohol abusers by combining carbohydrate-deficient transferrin and γ -glutamyltransferase. *Clinical Chemistry*, 47, 681–685.
50. Sillanaukee P (1992) The diagnostic value of discriminant score in the detection of alcohol abuse. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 116, 924–929.
51. Hartz A, Guse C, Kajdacsy-Balla A (1997) Identification of heavy drinkers using a combination of laboratory tests. *Journal of Clinical Epidemiology*, 50, 1357–1368.

Adres do korespondencji:

Ewa Czech

Zakład Radiodiagnostyki i Medycyny Nuklearnej

Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiej AM

ul. Medyków 18, 40–752 Katowice

tel. (032) 2088419

e-mail: eczech@slam.katowice.pl

otrzymano: 20.12.06

przyjęto do druku: 19.02.07