

**Ewa Taracha<sup>1</sup>, Bogusław Habrat<sup>2</sup>, Helena Baran-Furga<sup>2</sup>,  
Karina Chmielewska<sup>2</sup>, Piotr Woźniak<sup>2</sup>, Bogdan Szukalski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Biochemii i <sup>2</sup>Zespół Profilaktyki i Leczenia Uzależnień  
Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

## **ZASTOSOWANIE OZNACZANIA AKTYWNOŚCI $\beta$ -HEKSOZOAMINIDAZY W MOCZU I MARKERÓW ALKOHOLIZMU W SUROWICY DO IDENTYFIKACJI OSÓB NADUŻYWAJĄCYCH ALKOHOLU WŚRÓD UZALEŻNIONYCH OD OPIATÓW UCZESTNICZĄCYCH W PROGRAMIE SUBSTYTUCYJNEGO LECZENIA METADONEM**

### **WSTĘP**

Jednym z celów i warunków uczestnictwa w prowadzonym Instytucie Psychiatrii i Neurologii od 1992 r. programie metadonowym jest zachowanie abstynencji od substancji psychoaktywnych (35). Jest to sprawdzane poprzez systematyczne kontrolowanie występowania opiatów, amfetaminy, barbituranów i benzodiazepin w moczu (37). Z obserwacji wynika, że znaczna część pacjentów po rozpoczęciu przyjmowania metadonu zwiększa spożycie alkoholu, prawdopodobnie w związku z kompensowaniem mniejszego, w porównaniu z heroiną, euforyzującego działania metadonu. Mimo, że stanowi to istotny problem kliniczny, zjawiskiem tym nie interesowano się w sposób dostateczny. Po części wynika to z faktu małej użyteczności standardowych markerów alkoholizmu, które oznaczane są głównie we krwi, a to stanowi dużą trudność w tej grupie pacjentów (zniszczony układ żył powierzchniowych, zakaźność materiału). W dwóch ośrodkach na

świecie (10, 11, 12, 13, 14, 20, 21, 22, 40, 41, 42) rozpoczęto badania nad przydatnością oznaczania aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu do wykrywania nadużywania alkoholu u alkoholików, a nasz zespół wstępnie wykazał przydatność tego markera do wykrywania nadużywania alkoholu przez narkomanów opiatowych uczestniczących w programie metadonowym (38). Niewątpliwymi zaletami tego markera są m.in.: brak konieczności pobierania krwi od osób uzależnionych, małe wymagania aparaturowe i niskie koszty. Obecnie chcieliśmy porównać użyteczność oznaczania  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu (mHex) do wykrywania osób pijących wśród uczestników programów metadonowych z użytecznością standardowych markerów oznaczanych w surowicy: względnej ilości desialowanej transferyny (tzn. ilości desialowanej transferyny w stosunku do całkowitej ilości transferyny – s%CDT) (1, 5, 17, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 33, 34, 36),  $\beta$ -heksozoaminidazy (sHex) (5, 11, 17, 18, 20, 21, 22, 27, 39) i  $\gamma$ -glutamylotransferazy (sGGT) (5, 6, 27, 33).

## GRUPY BADANE I METODY

Grupę badaną stanowiło 45 mężczyzn uzależnionych od opiatów uczestniczących w programie substytucyjnego leczenia metadonem. Wg oceny klinicznej, 24 z nich to osoby utrzymujące abstynencję od alkoholu (średni wiek 36,8 $\pm$ 7 lat), a 21 to osoby wbrew zakazom pijące alkohol w czasie uczestniczenia w programie (średni wiek 38,5 $\pm$ 5,2 lat). Z tej pierwszej podgrupy pięć osób otrzymywało skojarzone leczenie antyretrowirusowe, podczas gdy w drugiej podgrupie takich osób było cztery. Z badań biochemicznych wykluczono 2 pacjentów: jednego z cukrzycą i jednego po zatruciu kłometiazolem.

Grupę kontrolną stanowiło 37 mężczyzn (średni wiek 40,8 $\pm$ 11,4 lat) uzależnionych od alkoholu w trakcie szpitalnego leczenia odwykowego, którzy utrzymywali abstynencję przez co najmniej 6 tygodni.

Wszystkie trzy grupy nie różniły się statystycznie znamienne między sobą zarówno pod względem wieku, jak i *body mass index* (ten ostatni parametr oznaczano ze względu na możliwość wzrostu aktywności sGGT u osób otyłych) (6).

W celu zobiekttywizowania oceny nadużywania alkoholu pacjenci byli badani testem AUDIT (2,9). Osoby uzależnione od alkoholu osiągnęły w tej skali 27,94 $\pm$ 8,02 pkt., co stanowiło różnicę znamienne statystycznie zarówno w stosunku do osób z programu metadonowego ocenianych jako utrzymujące abstynencję: 3,92 $\pm$ 4,6 pkt. ( $p=3*10^{-10}$ ), jak i ocenianych jako nadużywające alkoholu: 10 $\pm$ 10,69 pkt. ( $p=1,1*10^{-6}$ ). Różnica między obu podgrupami osób z programu metadonowego (pijący i niepijący) była również znamienne statystycznie ( $p=0,0007$ ).

Zarówno osoby oceniane jako abstynenci, jak i osoby pijące w czasie programu metadonowego, miały zbliżone średnie dawki metadonu, wynosiły one odpowiednio 66 $\pm$ 25 mg/dobę i 74 $\pm$ 25 mg/dobę.

Ze względu na mogącą pojawiać się sporadycznie zmienność wydalania enzymów do moczu, podobnie jak w poprzedniej pracy (38) wartość aktywności mHex jest średnią otrzymaną na podstawie oznaczeń wykonywanych w przynajmniej dwóch próbkach moczu pobieranych w różnych dniach. Krew pobierano przy okazji rutyno-

wych badań kontrolnych. U pojedynczych chorych nie oznaczono markerów w surowicy ( $\beta$ -heksozoaminidazy – sHex,  $\gamma$ -glutamylotransferazy – sGGT, % desialowanej transferyny – %CDT) ze względu na hemolizę krwi, przedwczesne wykreślenie z programu lub wykonywanie badań okresowych w innym szpitalu.

**Metody oznaczeń:** Oznaczenia  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu wykonywano metodą spektrofotometryczną stosowaną dotychczas i opisaną w innej publikacji (38). Jako jednostkę aktywności przyjęto taką ilość enzymu, która w temperaturze 37°C, w ciągu minuty przekształca do p-nitrofenolu 1  $\mu$ mol substratu. Wyniki podano w przeliczeniu na mmol kreatyniny. sGGT oznaczano w surowicy w ciągu 2 godzin od jej otrzymania. Surowicę do oznaczeń sHex i %CDT przechowywano w temperaturze -20°C. Aktywność sGGT oznaczano w temp. 37°C standardową metodą opartą na pracach Sasz, Rosalki i Tarlowa przy pomocy odczynników f-my Alpha Diagnostics zgodnie z podaną procedurą. Aktywność podano w IU/l. sHex po 5-krotnym rozcieńczeniu oznaczano tą samą metodą spektrofotometryczną co mocz. Jako jednostkę aktywności przyjęto taką ilość enzymu, która w temperaturze 37°C, w ciągu minuty przekształca do p-nitrofenolu 1  $\mu$ mol substratu. Aktywność podano w j./l. Oznaczenie %CDT w surowicy wykonywano przy pomocy testu Axis% CDT Turbidimetric Immunoassay firmy Bio Rad zgodnie z podaną procedurą. Do oceny statystycznej stosowano test Manna-Whitney'a. Analizę ROC przeprowadzono przy pomocy programu Graph ROC (19).

## WYNIKI

Średnie wyniki aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu, aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy,  $\gamma$ -glutamylotransferazy i % desialowanej transferyny w surowicy u osób uzależnionych od alkoholu i uzależnionych od opiatów zachowujących abstynencję i pijących alkohol przedstawiono w tabeli 1.

TABELA 1

Średnie wyniki aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu, % CDT, aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy,  $\gamma$ -glutamylotransferazy w surowicy u osób uzależnionych od alkoholu zachowujących abstynencję i uzależnionych od opiatów zachowujących abstynencję i pijących alkohol

Test	1. Uzależnieni od alkoholu utrzymujący abstynencję	2. Uzależnieni od opiatów utrzymujący abstynencję	3. Uzależnieni od opiatów nadużywający alkohol	Ocena statystyczna różnic między grupami
$\beta$ -heksozoaminidaza w moczu (j./mmol kreatyniny)	N = 37 0,34±0,17	N = 24 0,58±0,44	N = 21 0,72±0,39	1:2 p = 0,0014 1:3 p = 1,4*10 <sup>-6</sup> 2:3 p = 0,05
% CDT w surowicy	N = 36 3,60±1,02	N = 21 3,37±0,85	N = 18 4,59±1,76	1:2 p = n.z. 1:3 p = 0,03 2:3 p = 0,01
$\beta$ -heksozoaminidaza w surowicy (j./l)	N = 36 24,29±5,74	N = 21 31,64±9,37	N = 18 37,01±10,34	1:2 p = 0,0023 1:3 p = 1,1*10 <sup>-5</sup> 2:3 p = n.z.
$\gamma$ -glutamylotransferaza w surowicy (IU/l)	N = 34 25,59±14,51	N = 20 75,7±56,2	N = 18 96,72±90,87	1:2 p = 0,00002 1:3 p = 0,0004 2:3 p = n.z.

We wszystkich testach osoby uzależnione od opiatów, które nadużywały alkoholu, miały średnie wartości markerów większe niż osoby uzależnione od alkoholu zachowujące abstynencję (mHex  $p=1,4 \cdot 10^{-6}$ , s%CDT  $p=0,03$ , sHex  $p=1,1 \cdot 10^{-5}$ , sGGT  $p=4 \cdot 10^{-5}$ ). Natomiast między narkomanami pijącymi i niepijącymi największe różnice otrzymano dla oznaczanego w surowicy % CDT ( $p=0,013$ ) i  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu ( $p<0,05$ ).

Nie jest jasne, dlaczego również u osób uzależnionych od opiatów, które nie piły alkoholu, dla wszystkich badanych markerów alkoholowych (oprócz najbardziej specyficznego: s%CDT), otrzymano wartości statystycznie znamienne większe niż dla osób uzależnionych od alkoholu, zachowujących abstynencję (mHex  $p=0,0014$ , sHex  $p=0,0023$ , sGGT  $p=0,00002$ ). Prawdopodobnie jest to związane z innym niż alkohol czynnikami, m.in. dlatego, że s%CDT jako marker o największej specyficzności nie zmienił się w sposób znaczący. Grupa osób uzależnionych od opiatów była zróżnicowana pod względem występowania chorób somatycznych i stosowanego w trakcie trwania badań leczenia. W grupie 24 osób uzależnionych od opiatów, zachowujących abstynencję dwie osoby wykluczono z badań: jedną ze względu na cukrzycę i jedną ze względu na zatrucie kłometiazolem. Z pozostałych 22 osób 5 otrzymywało leczenie antyretrowirusowe. Przypuszczaliśmy, że być może przyczynia się ono do podwyższenia wartości badanych markerów.

TABELA 2

Średnie wyniki aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu, % CDT, aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy i  $\gamma$ -glutamylotransferazy w surowicy u osób uzależnionych od opiatów w zależności od leczenia antyretrowirusowego

Marker	Uzależnieni od opiatów leczeni antyretrowirusowo		Uzależnieni od opiatów nie leczeni antyretrowirusowo		Ocena statystyczna różnic między grupami
	Liczba badanych	Średnia i odchylenia standardowe	Liczba badanych	Średnia i odchylenia standardowe	
mHex (j./mmol kreatyniny)	11	0,99±0,65	34	0,53±0,24	$p=0,016$
s%CDT	10	3,59±1,45	29	4,05±1,48	n.z.
sHex (j./l)	10	35,83±9,17	29	33,53±10,45	n.z.
sGGT (IU/l)	10	102,10±59,40	28	79,78±79,15	n.z.

Średnie wartości sGGT i mHex są statystycznie znamienne wyższe ( $p=0,043$  i  $p=0,028$ ) w podgrupie osób uzależnionych od opiatów niepijących, otrzymujących leczenie antyretrowirusowe w porównaniu z osobami niepijącymi, nie leczonymi antyretrowirusowo. Aktywność sHex również jest wyższa w podgrupie leczonych antyretrowirusowo, ale różnica ta nie jest statystycznie znamienna. Aktywności wszystkich trzech badanych enzymów (mHex, sGGT i sHex) w podgrupie niepijących otrzymujących leczenie antyretrowirusowe nie różnią się od wartości otrzymywanych w grupie osób uzależnionych od opiatów nadużywających alkoholu, nie otrzymujących leczenia antyretrowirusowego. Zdaje się to przemawiać za wpływem stosowanych tu leków na wzrost aktywności badanych enzymów. Grupa osób otrzymujących leczenie antyretrowirusowe jest jednak zbyt mała

TABELA 3

Średnie wyniki aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu, % CDT, aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy  $\gamma$ -glutamylotransferazy w surowicy u uzależnionych od opiatów zachowujących abstynencję i pijących alkohol w zależności od leczenia antyretrowirusowego

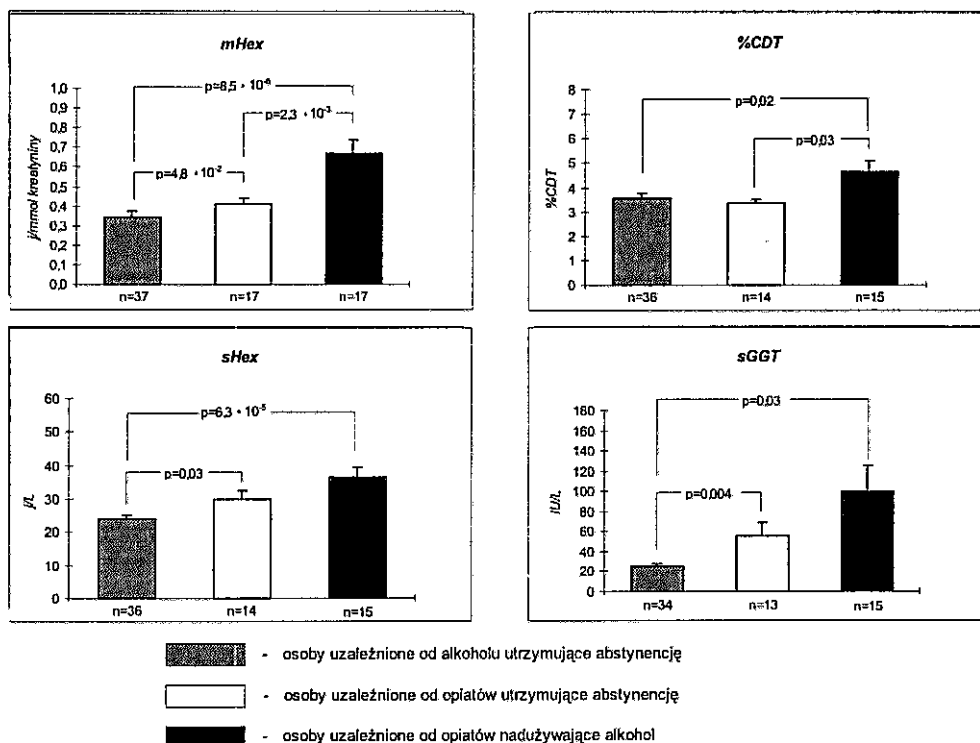
Marker	Uzależnieni od opiatów utrzymujący abstynencję		Uzależnieni od opiatów nadużywający alkohol	
	Nieleczeni antyretrowirusowo	Leczeni antyretrowirusowo	Nieleczeni antyretrowirusowo	Leczeni antyretrowirusowo
$\beta$ -heksozoaminidaza w moczu (j./mmol kreataniny)	N=17 0,41 $\pm$ 0,11 a,b	N=5 1,05 $\pm$ 0,79 a	N=17 0,67 $\pm$ 0,28 b	N=4 0,93 $\pm$ 0,74
% CDT w surowicy	N=14 3,39 $\pm$ 0,56 c	N=5 3,44 $\pm$ 1,58	N=15 4,68 $\pm$ 1,79 c	N=3 4,16 $\pm$ 1,87
$\beta$ -heksozoaminidaza w surowicy (j./l)	N=14 30,15 $\pm$ 9,15	N=5 36,58 $\pm$ 9,52	N=15 36,69 $\pm$ 10,88	N=3 38,61 $\pm$ 8,66
$\gamma$ -glutamylotransferaza w surowicy (IU/l)	N=13 56,00 $\pm$ 46,86 d	N=5 115,00 $\pm$ 55,77 d	N=15 100,40 $\pm$ 96,02	N=3 78,33 $\pm$ 71,00

a-a p=0,028, b-b p=0,0023, c-c p=0,031, d-d p=0,043

(5 osób), by można było wyciągać jednoznaczne wnioski. W grupie osób uzależnionych od opiatów, które piły alkohol nie przeprowadzono takiej analizy ze względu na zbyt małą liczebność podgrupy otrzymującej leczenie antyretrowirusowe (tylko u trzech takich pacjentów wykonano oznaczenia markerów w surowicy). Ponieważ jednak nie można jednoznacznie wykluczyć wpływu stosowanych leków na wyniki naszych testów, z dalszych obliczeń wykluczaliśmy osoby otrzymujące leczenie antyretrowirusowe.

Mimo to średnie aktywności sGGT, sHex i mHex nadal pozostały wyższe w grupie osób uzależnionych od opiatów, niepijących w porównaniu z osobami uzależnionymi od alkoholu, zachowującymi abstynencję od minimum 6 tygodni (dla mHex, sHex i sGGT p wynosi odpowiednio: 0,048, 0,03 i 0,004). Nie mogliśmy zbadać wpływu samego metadonu na wartości markerów, ponieważ u żadnego z pacjentów biorących udział w programie metadonowym jego dawka nie została zredukowana do zera. Na obecnym etapie badań nie umiemy podać przyczyn zwiększonej aktywności mHex, sHex i sGGT u osób uzależnionych od opiatów, niepijących w porównaniu z osobami uzależnionymi od alkoholu, zachowującymi abstynencję. W poprzednich pracach (13, 38, 42) wykazaliśmy brak wpływu wielkości dawki metadonu, niektórych leków psychotropowych, seropozytywności HIV oraz przyjmowania zakazanych substancji psychoaktywnych na aktywność mHex.

W poprzedniej pracy (38) stwierdziliśmy, że średnia aktywność mHex w grupie osób zdrowych somatycznie, nieuzależnionych, nienadużywających alkoholu wynosiła tylko 0,21 $\pm$ 0,09 j./mmol kreatyniny. Wartość ta jest statystycznie znacznie niższa niż u osób uzależnionych od alkoholu zachowujących abstynencję (p=0,0011). Zjawisko zróżnicowania średnich wartości mHex w grupach z różnymi chorobami i



Ryc. 1. Średnie wartości i błąd standardowy dla markerów picia alkoholu: oznaczanej w moczu  $\beta$ -heksozoaminidazy (mHex) i oznaczanych w surowicy  $\beta$ -heksozoaminidazy (sHex),  $\gamma$ -glutamylotransferazy (sGGT) i względnej ilości desialowanej transferyny (s%CDT) u osób uzależnionych od alkoholu zachowujących abstynencję i osób biorących udział w programie metadonowym nie otrzymujących leczenia antyretrowirusowego zachowujących abstynencję od alkoholu i nadużywających alkoholu.

u osób zdrowych jest prawdopodobnie uwarunkowane wieloczynnikowo: żaden z badanych przez nas potencjalnych czynników nie przyczyniał się do znamiennej statystycznie zwiększenia aktywności enzymu, ale być może sumujący się ich wpływ powoduje znaczący wzrost wartości tego markera.

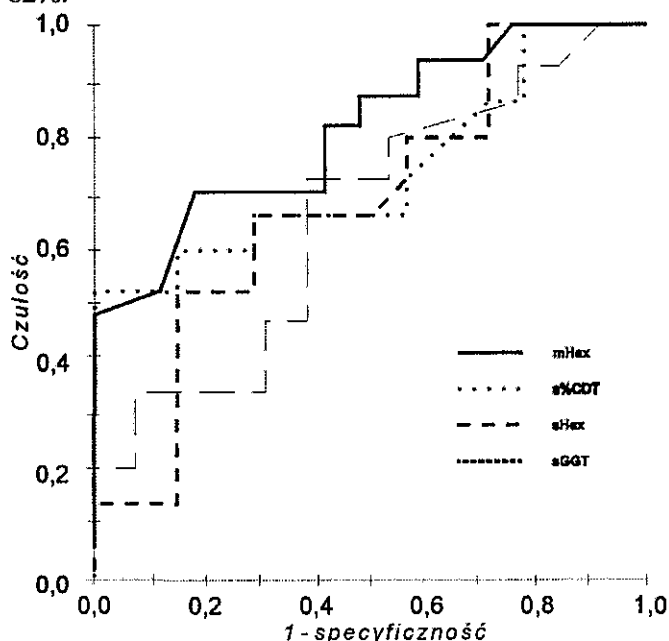
Powyższe badania potwierdzają, że nie ma „uniwersalnej” wartości granicznej, powyżej której we wszystkich grupach chorych można odróżnić osoby nadużywające alkohol od niepijących. Wartość graniczna w grupie uzależnionych od opiatów powinna być wyższa niż w grupie uzależnionych tylko od alkoholu.

Do opisu użyteczności markerów używa się przede wszystkim dwóch parametrów: czułości i specyficzności. Są one zależne od przyjętej wartości granicznej. W zależności od wymagań stawianych testowi, zmieniając wartość graniczną można zwiększyć czułość (kosztem specyficzności) lub specyficzność (kosztem czułości). Czułość i specyficzność dają niepełny obraz zdolności rozdzielczych testu. Ograniczają się do jego oceny tylko dla jednej wartości granicznej. Ostatnio coraz częściej do oceny testów biologicznych stosuje się metodę Receiver Operating Characteristic (ROC) (3, 7, 8, 15, 16, 29, 30, 31, 32, 43). Powyższa technika statystyczna pozwala wykreślić zależność między

wartościami czułości i specyficzności testu dla wszystkich wartości granicznych. Zestawienie krzywych dla kilku testów na jednym wykresie pozwala na jakościowe porównanie sprawności testów. Najlepszymu testowi będzie odpowiadała krzywa położona najwyżej i najbardziej z lewej strony (górną lewą róg odpowiada 100% czułości i 100% specyficzności). Miarą użyteczności testu jest wielkość powierzchni pod krzywą. Dla idealnego testu wynosi ona 1, dla testu nierozróżniającego badanej cechy  $< 0,5$ .

Na rycinie 2 przedstawiono graficznie wykresy, a w tabeli 3 wyniki analizy ROC dla wszystkich czterech badanych markerów.

Największą powierzchnię pod krzywą ma test mHex (0,82). Dla wartości granicznej wynoszącej 0,52 j/mmol kreatyniny ma on zadawalające parametry: czułość 70% i specyficzność 82%.



Ryc. 2. Krzywe zależności czułości i specyficzności dla wszystkich wartości granicznych dla markerów: oznaczanej w moczu  $\beta$ -heksozoaminidazy (mHex) i oznaczanych w surowicy  $\beta$ -heksozoaminidazy (sHex),  $\gamma$ -glutamylotransferazy (sGGT) i względnej ilości desialowanej transferyny (s%CDT) mierzonych u osób biorących udział w programie metadonowym nie otrzymujących leczenia antyretrowirusowego.

TABELA 4

Wielkości pola pod krzywą ROC dla aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu, % CDT, aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy i  $\gamma$ -glutamylotransferazy w surowicy u osób uzależnionych od opiatów zachowujących abstynencję od alkoholu i pijących

Marker	Wielkość pola pod krzywą ROC
mHex	0,8166
s%CDT	0,7429
sHex	0,6881
sGGT	0,6564

Drugim najlepszym pod względem mocy dyskryminacyjnej markerem okazał się s%CDT. Powierzchnia pod krzywą dla tego testu wynosi 0,74. Ma on, co prawda, przy wartości granicznej 4,25 czułość zaledwie 50%, ale jego specyficzność w tym punkcie wynosi 100%. Jest to zgodne z innymi doniesieniami o bardzo wysokiej specyficzności tego markera w wykrywaniu nadużywania alkoholu (1, 5, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 33, 34, 36).

W monitorowaniu abstynencji na ogół ważniejsza jest czułość testu (identyfikacja większej liczby pijących) niż jego specyficzność (możliwość wyników fałszywie pozytywnych, które można zweryfikować innymi metodami) (4, 5, 27), co powoduje przewagę mHex nad s%CDT. Mała czułość s%CDT, która nie stanowi problemu w przypadku badań nad alkoholizmem (czułość zwiększa się znacznie u osób, które piją alkohol w ilości co najmniej 80 g czystego alkoholu na dobę przez 3 tygodnie, ale jest mała w przypadku pijących okazjonalnie), jest istotną wadą w przypadku badań narkomanów uczestniczących w programie metadonowym. Te osoby, które choć wbrew zaleceniom piją alkohol, mają jednak znacznie mniejsze spożycie alkoholu w porównaniu z osobami uzależnionymi od alkoholu (niższe wyniki w teście AUDIT) i dlatego w tym przypadku większą rolę odgrywa czułość testu, czyli zdolność wykrywania bardziej dyskretnych zmian spowodowanych alkoholem. Czułość s%CDT można co prawda zwiększyć przyjmując mniejszą wartość graniczną, ale w związku z charakterystyką krzywej (gwałtowna zmiana nachylenia krzywej przy czułości powyżej 50%) jest to okupione bardzo dużym zmniejszeniem się specyficzności (np. przy zmianie wartości granicznej na 3,5, czułość zwiększy się do 67%, ale specyficzność zmniejszy się do 50%).

Przy ocenie użyteczności markerów niebagatelnyymi sprawami są czynniki ekonomiczne i techniczne: koszt odczynników potrzebnych do jednego oznaczenia takich markerów jak: mHex, sHex i sGGT wynosi ok. 1-1,5 zł, podczas gdy koszt odczynników niezbędnych do jednego oznaczenia s%CDT wynosi ok. 40 zł, a sama technika laboratoryjna jest nieporównywalnie bardziej pracochłonna i skomplikowana.

Pozostałe dwa markery: sHex i sGGT, choć tanie i proste mają, wyraźnie gorsze parametry (pole=0,69 i 0,66) w porównaniu z mHex i s%CDT. Krzywe dla sHex i sGGT w obszarze akceptowalnych specyficzności, leżą poniżej krzywych dla mHex i s%CDT i dlatego te dwa pierwsze markery mają małą zdolność różnicowania osób zachowujących abstynencję i nadużywających alkohol w czasie substytucyjnego leczenia metadonem.

## WNIOSKI

1. Analiza statystyczna ROC wykazała większą użyteczność kliniczną oznaczania aktywności  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu i %CDT w surowicy w celu identyfikacji osób pijących alkohol w czasie uczestniczenia w programie metadonowym niż takich markerów jak aktywność  $\beta$ -heksozoaminidazy i  $\gamma$ -glutamylotransferazy w surowicy.

2.  $\beta$ -heksozoaminidaza oznaczana w moczu jako marker picia przez osoby uzależnione od opiatów ma tę przewagę nad %CDT w surowicy, że ma lepszą relację między czułością a specyficznością, większą czułość przy małym spożyciu alkoholu, materiał do



badań (mocz) jest znacznie łatwiej osiągalny, odczynniki potrzebne do oznaczania są ok. 40 razy tańsze, a samo oznaczanie jest mniej pracochłonne i skomplikowane.

## STRESZCZENIE

Zwiększenie spożycia alkoholu przez osoby uzależnione od opiatów uczestniczące w programach substytucyjnego leczenia metadonem jest istotnym problemem klinicznym. Monitorowanie trzeźwości przy pomocy tradycyjnych markerów nadużywania alkoholu w tej grupie chorych jest trudne ze względu na konieczność częstego pobierania krwi. Dlatego zbadaliśmy użyteczność oznaczania w moczu  $\beta$ -heksozoaminidazy (mHex) jako markera nadużywania alkoholu oraz porównaliśmy ją z użytecznością markerów oznaczanych w surowicy ( $\beta$ -heksozoaminidaza – s-Hex,  $\gamma$ -glutamylotransferaza – sGGT, odsetek desialowanej do całkowitej transferyny s%CDT). Grupę badaną stanowiło 45 pacjentów uzależnionych od opiatów, uczestniczących w programie metadonowym. W grupie tej były 24 osoby utrzymujące abstynencję od alkoholu i 21 osób pijących mimo zakazu. Grupę kontrolną stanowiło 37 mężczyzn uzależnionych od alkoholu, którzy utrzymywali abstynencję przynajmniej od kilku tygodni. We wszystkich testach osoby uzależnione od opiatów i nadużywające alkoholu miały średnie wartości markerów znamienne większe niż osoby uzależnione od alkoholu, ale zachowujące abstynencję. Natomiast narkomanów pijących alkohol od narkomanów utrzymujących abstynencję od alkoholu różnicowały jedynie dwa testy: s%CDT ( $p=0,013$ ) i mHex ( $p<0,05$ ). Posługując się analizą statystyczną Receiver Operating Characteristic (ROC), która uwzględnia dwa najważniejsze parametry markerów: czułość i specyficzność, stwierdziliśmy, że najlepszymi testami w tej grupie chorych są mHex (powierzchnia pod krzywą ROC 0,82) i s%CDT (0,74). Biorąc pod uwagę, że mHex jest badaniem nie związanym z pobieraniem krwi, jest łatwe do wykonania i tanie, oznaczanie aktywności mHex można uznać za najbardziej użyteczny marker nadużywania alkoholu przez osoby z uzależnieniem opioidowym.

**Słowa kluczowe:** markery alkoholizmu,  $\beta$ -heksozoaminidaza, uzależnienie od opiatów, metadon

Ewa Taracha, Bogusław Habrat, Helena Baran-Furga, Karina Chmielewska,  
Piotr Woźniak, Bogdan Szukalski

**Identification of alcohol abusers among opiate dependent participants  
of a methadone substitution program by determination of urine  
 $\beta$ -hexosaminidase and serum markers of alcoholism**

## SUMMARY

Increased alcohol consumption in opiate dependent participants of methadone substitution programs is an important clinical problem. Sobriety monitoring by means of traditional markers of alcohol abuse is difficult in this group of patients since a frequent drawing of blood samples is required. Thus, in our study usefulness of urine

marker of alcohol abuse:  $\beta$ -hexosaminidase (mHex) was assessed and compared with that of blood plasma markers: ratio of desialated transferyne to the global amount of transferine (s%CDT) and of  $\gamma$ -glutamylotransferase (sGGT). Subjects in the study were 45 opiate dependent participants of a methadone program. 24 of these patients abstained from alcohol, while 21 drank alcohol despite the ban. The control group consisted of 37 male alcoholics maintaining abstinence for at least some weeks. In all the tests opiate dependent alcohol abusers, as compared to alcoholics maintaining abstinence, had significantly higher levels of markers. On the other hand, among opiate dependent patients only two tests differentiated abstainers from alcohol drinkers: s%CDT ( $p < 0.013$ ) and mHex ( $p < 0.05$ ). The Receiver Operating Characteristic (ROC), a statistical analysis accounting for two major parameters of markers, i.e. their sensitivity and specificity, was used. The analysis indicated that the best tests in this group of patients were mHex (the area under the ROC curve=0.82) and %CDT (0.74). Since mHex does not require drawing any blood samples, and the procedure is cheap and simple, determining the urine  $\beta$ -hexosaminidase may be considered to be the most useful marker of alcohol abuse in opiate dependent individuals.

**Key words:** markers of alcoholism,  $\beta$ -hexosaminidase, opiate dependents, methadone

## PIŚMIENICTWO

1. Anton R. F., Moak D.H., Latham P.: *Carbohydrate-deficient transferrin as an indicator of drinking status during a treatment outcome study*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1996, 20, 841-846.
2. Babor T.F., de la Fuente J.R., Saunders J., Grant M.: *Test Rozpoznawania Zaburzeń Związanych z Piciem Alkoholu AUDIT*. PARPA, Warszawa 1994.
3. Boyd J.C.: *Mathematical tools for demonstrating the clinical usefulness of biochemical markers*. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1997, 57, supl. 227, 46-63.
4. Cherpitel C.J.: *Analysis of cut points for screening instruments for alcohol problems in the emergency room*. J. Stud. Alcohol. 1995, 56, 695-700.
5. Conigrave K.M., Saunders J.B., Whitfield J.B.: *Diagnostic tests for alcohol consumption*. Alcohol Alcoholism, 1995, 30, 13-26.
6. Daepfen J.B., Smith T.L., Schuckit M.A.: *Influence of age and body mass index on  $\beta$ -glutamyltransferase activity: a 15-year follow-up evaluation in community sample*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1998, 22, 941-944.
7. Greiner M.: *Two graph receiver operating characteristic (TG-ROC): a Microsoft-Excel template for the selection of cut-off values in diagnostic tests*. J. Immun. Meth. 1995, 185, 145-146.
8. Grzybowski M. Younger J.G.: *Statistical methodology: III. Receiver Operating Characteristic (ROC) curves*. Acad. Emerg. Med. 1997, 4, 818-826.
9. Habrat B.: *Polska wersja AUDIT*. Świat Problemów. 1993, nr 7, 18-20.
10. Habrat B., Czartoryska B., Górska D., Poźniak M., Wehr H.: *Urine  $\beta$ -hexosaminidase activity as a marker for sobriety monitoring*. Alcohol & Alcoholism. 1995, 30, 556-556.

11. Habrat B., Czartoryska B., Górska D., Poźniak M., Wehr H.: *Próba wykorzystania  $\beta$ -heksozoaminidazy jako markera nadużywania alkoholu w leczeniu uzależnienia*. Postępy Psychiatrii i Neurologii, 1995, 4, 181-188.
12. Habrat B., Wehr H., Czartoryska B., Górska D., Poźniak M., Woronowicz B.: *Urine  $\beta$ -hexosaminidase: non-hepatic marker of alcohol abuse in alcoholic patients*. Abstracts of the 2nd Republican Symposium of Hepatology, Grodno, 30.09.-03.11.1996, 203-203.
13. Habrat B., Wehr H., Czartoryska B., Górska D., Woronowicz B.: *Analiza wpływu stosowanej farmakoterapii i uszkodzenia wątroby na aktywność  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu*. Alkoholizm i Narkomania. 1996, nr 2 (23), 189-194.
14. Habrat B., Wehr H., Woronowicz B.T.: *Oznaczanie  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu do monitorowania abstynencji osób uzależnionych od alkoholu*. Psychiatria Polska, XXXVIII Zjazd Psychiatrów Polskich, Wrocław 4-7 maja 1995, Przemiany w Psychiatrii. Streszczenia prac. 1995, 50-50.
15. Hanley J.A.: *The use of the „binormal” model for parametric ROC analysis of quantitative diagnostic tests*. Stat. Med., 1996, 15, 1575-1585.
16. Hsiao J.K., Bartko J.J., Potter W.Z.: *Diagnosing diagnoses. Receiver Operating Characteristic methods and psychiatry*. Arch. Gen. Psychiatry, 1989, 46, 664-667.
17. Hultberg B., Isaksson A., Berglund M., Alling C.: *Increases and time-course variations in beta-hexosaminidase isoenzyme B and carbohydrate deficient transferrin in serum from alcoholics are similar*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1995 19, 452-456.
18. Hultberg B., Isaksson A., Berglund M., Moberg A.L.: *Serum beta-hexosaminidase isoenzyme: a sensitive marker for alcohol abuse*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1991, 15, 549-52.
19. Karisto V., Poola A.: *Software for illustrative presentation of basic clinical characteristics of laboratory tests – Graph ROC for Windows*. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1995, 55, suppl. 222, 43-60.
20. Karkkainen P.: *Serum and urinary  $\beta$ -hexosaminidase as a marker of heavy drinking*. Alcohol & Alcoholism, 1990, 25, 365-369.
21. Karkkainen P., Jokelainen K., Roine R., Suokas A., Salaspuro M.: *The effects of moderate drinking and abstinence on serum and urinary  $\beta$ -hexosaminidase levels*. Drug Alcohol. Dependence, 1990, 25, 35-38.
22. Karkkainen P., Salaspuro M.:  *$\beta$ -hexosaminidase in the detection of alcoholism and heavy drinking*. Alcohol Alcohol. 1991, suppl. 1: 459-64.
23. Lesch O.M., Walter H., Antal J. Kanitz R.D., Kovacz A., Leitner A., Marx B., Neumeister A., Saletu M., Semler B., Stumpf I., Mader R.: *Alcohol dependence: is carbohydrate-deficient transferrin a marker for alcohol intake?* Alcohol Alcohol. 1996, 31, 257-264.
24. Lesch O. M., Walter H.: *New state marker for detection of alcoholism*. Alcohol Alcohol. 1995, 31, suppl. 1, 59-62.
25. Lesch O.M., Walter H., Freitag H., Heggli D., Leitner A., Mader R., Neumeister A., Passweg V., Pusch H., Semler B., Sunderhagen E., Kasper S. *Carbohydrate-deficient transferrin as a screening marker for drinking in a general population*. Alcohol Alcohol. 1996, 31: 249-256.
26. Niemela O., Sorvajarvi K., Blake J.E., Israel Y.: *Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of alcohol abuse: Relationship to alcohol consumption, severity of liver disease, and fibrogenesis*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1995, 19, 1203-1208.
27. Rosman A.S. *Utility and evaluation of biochemical markers of alcohol consumption*. J. Subst. Abuse 1992, 4, 277-297.

28. Rosman A.S., Basu P., Galvin K., Lieber Ch.S.: *Utility of carbohydrate-deficient transferrin as a marker of relapse in alcoholic patients*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1995, 19, 611-616.
29. Somoza E., Mossman D.: *„Biological markers” and psychiatric diagnosis: risk – benefit balancing using ROC analysis*. Biol. Psychiatry, 1991, 29, 811-826.
30. Somoza E., Mossman D.: *Comparing and optimizing diagnostic tests: an information-theoretical approach*. Med. Decis. Making 1992, 12, 179-188.
31. Somoza E., Mossman D.: *Comparing diagnostic tests using information theory: the INFO-ROC technique*. J. Neuropsychiat. Clin. Neurosci. 1992, 4, 214-219.
32. Somoza E.: *Classification of diagnostic tests*. Int. J. Biol. Med. Comp. 1994, 37, 41-55
33. Soyka M.: *Biologische Alkoholismuskriterien*. Chapman & Hall, Weinheim 1995.
34. Stauber R. E., Stepan V., Trauner M., Wilders-Trusching M., Leb G., Krejs G.J.: *Evaluation of carbohydrate-deficient transferrin for detection of alcohol abuse in patients with liver dysfunction*. Alcohol Alcohol. 1995, 30, 171-176.
35. Steinbarth-Chmielewska K., Baran-Furga H.: *Pilotażowy program metadonowy. Zasady organizacyjne i cele*. W: Zieliński A. (red.): Konferencja Międzynarodowa Program Metadonowy na Tle Innych Programów Rehabilitacyjnych Osób Uzależnionych w Profilaktyce HIV/AIDS. Jadwisin, 12-14 września 1994. Biuro ds. Narkomanii, Warszawa 1995, 75-84.
36. Stilber H.: *Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed*. Clin. Chem. 1991, 37, 2029-2037.
37. Szukalski B., Taracha E.: *Laboratoryjna kontrola abstynencji narkomanów podczas długotrwałej terapii metadonem*. Alkoholizm i Narkomania. 1994, nr 1 (15), 71-80.
38. Taracha E., Habrat B., Chmielewska K., Baran H., Szukalski B.: *Zastosowanie oznaczania  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu do diagnostyki nadużywania alkoholu przez osoby uzależnione od opiatów biorące udział w programie substytucyjnego leczenia metadonem*. Psychiatria Pol. 1999, 33, 215-224.
39. Wehr H., Czartoryska B., Górski D., Matsumoto H.: *Serum beta-hexosaminidase and alpha-mannosidase activities as markers of alcohol abuse*. Alcohol. Clin. Exp. Res., 1991, 15, 13-15.
40. Wehr H., Habrat B., Czartoryska B., Górski D., Poźniak M.: *Zastosowanie oznaczania  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu do diagnostyki nadużywania alkoholu*. Alkoholizm i Narkomania. 1994, nr 2 (16), 163-168.
41. Wehr H., Habrat B., Czartoryska B., Górski D., Woronowicz B.: *Aktywność  $\beta$ -heksozoaminidazy w moczu jako marker nadużywania alkoholu u osób uzależnionych*. Psychiatr. Pol. 1995, 29, 689-996.
42. Wehr H., Habrat B., Czartoryska B., Górski D., Woronowicz B.: *Urinary  $\beta$ -hexosaminidase activity as a marker of for sobriety monitoring*. Psychiatria Polska, 1996, 30, suppl., 59-66
43. Zweig M.H., Campbell G.: *Receiver-Operating Characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine*. Clin. Chem. 1993, 39, 561-577