

ASIALOTRANSFERRINA DISCRIMINANTE DO CONSUMO EXCESSIVO ACTIVO DE ÁLCOOL, SUB-AGUDO E CRÓNICO

Utilidade Clínica na Doença Hepática

JORGE A. PENEDA, AIDIL FONSECA, MARTINS NEVES, PAULO RIBEIRO,
MARGARIDA ALVES, ISABEL REDONDO, FILIPE CALINAS, M. CARMO MARTINS
Hospital St.º A. Capuchos (H.C.L.). Núcleo de Alcoologia. Dep. Biologia Médica. Instituto Nacional de Saúde. Lisboa

RESUMO

A determinação dos níveis séricos de transferrina deficiente em carbo-hidratos (CDT) e do rácio de transferrina no consumidor abusivo persistente de álcool aparece com promissora utilidade na área da alcoologia. Na série actual demonstra-se excelente especificidade (97%) no entanto com fraca sensibilidade (52%) para o CDT. Contudo o rácio CDT/Tft adiciona-lhe uma sensibilidade acrescida atingindo 74% mantendo a elevada especificidade. Nos consumidores abusivos (>70g/dia) persistentes, este índice que se correlaciona positivamente com a transferrina sérica, é capaz de escurtinar em elevada frequência estas captações de álcool e mostra uma informação independente pois não se correlaciona significativamente com os níveis dos marcadores biológicos tradicionais (AST, ALT, GGT, VGM). Embora com limitações metodológicas definidas, estes índices prenunciam, com melhoria da acessibilidade técnica, uma aplicabilidade prática no rastreio de consumidores abusivos crónicos. Na área da hepatologia o comportamento do CDT e rácio da transferrina é capaz de afirmar em elevada frequência o envolvimento do etanol no estudo da natureza de uma doença hepática crónica. No entanto, o grau de lesão do fígado tomado pelo índice hepático PGA, não influencia apreciavelmente os níveis séricos do CDT e rácio de transferrina. Na presente série, as circunstâncias e condições do consumo de álcool parecem ser o determinante independente do carácter informativo que estes índices revelam.

SUMMARY

Asialotransferrin discriminatory in the sub-acute and chronic excessive active consumption of alcohol. Clinical utility in hepatic disease.

The determination of serum levels of carbohydrate deficient transferrin (CDT) and transferrin ratio in the persistent abusive alcohol consumer arises with promising utility in the study of alcohol related disorders. This series shows the excellent specificity (97%), though poor sensitivity (52%), for CDT. However the CDT/Tft ratio affords a higher sensitivity, reaching 74%, maintaining the high specificity. In persistent abusive consumers (> 70g/day) this index, which is positively correlated with serum transferrin, is capable of defining these amounts of alcohol per capita with a high frequency and provides independent information since it is not significantly correlated with the levels of traditional biological markers (AST, ALT, GGT, AGV). Although with defined methodological limitations, these indexes denote, with the improvement of technical accessibility, a practical applicability in the screening of chronic abusive consumers. In the field of hepatology the

behaviour of CDT and the transferrin ratio is capable of showing the involvement of ethanol in the study of the nature of a chronic hepatic disease with a high frequency. However, the degree of liver lesion show by the PGA hepatic index, has no significant influence on the serum levels of CDT and the transferrin ratio. In this series, the circumstances and conditions of alcohol consumption seem to be the independent determinant of the informative character which these indexes reveal.

INTRODUÇÃO

A detecção ou monitorização de consumo regular de álcool, considerado abusivo¹⁻⁴, em populações clínicas e não clínicas tem sido uma área em actividade constante de há longo tempo. O testemunho do consumidor é, a maior parte das vezes, impreciso e irreal^{5,6} (situação de dependência crítica nos dados), impondo-se a procura de marcadores biológicos fiáveis de níveis de risco do uso de álcool que satisfaçam com eficácia as necessidades da clínica e da epidemiologia. Desde a década de 70 têm-se multiplicado inovações neste domínio, sem contudo se mostrarem consensuais e nem sempre subsistirem à prática clínica, aguardando-se ainda pelo marcador ideal (sensibilidade / especificidade / acessibilidade / precocidade)². Este marcador deverá assentar na fisiologia ou fisiopatologia do metabolismo do etanol que precede as alterações estruturais dos órgãos alvo e indiciar consumos de risco.

O distúrbio na homeostasia do ferro associado à metabolização persistente do etanol conduziu à demonstração laboratorial da existência, no soro de consumidores, de uma variante da transferrina normal (CDT – transferrina deficiente em carboidratos) doseável e que tem sido descrita como um promissor marcador de consumo abusivo activo de álcool⁷⁻¹³.

A transferrina fisiológica secretada pelo fígado é microheterogénea, com várias fracções glucídicas que incluem o ácido siálico, galactose, N-acetilglucosamina e manose em determinadas proporções¹⁴.

Desde Stibler¹, relata-se frequentemente que o consumo persistente abusivo de etanol reduz o número de carboidratos ligados à transferrina sérica, correspondendo esta variante da transferrina normal a 5-12% da transferrina total sérica nos consumidores de álcool, contra apenas 1 a 2% nos não consumidores¹⁵⁻¹⁹.

Têm-se multiplicado modificações metodológicas¹⁹⁻²² ao teste original na sua determinação com resultados não muito diferentes na maioria deles¹⁸, o que parece atestar a robustez da anormalidade química promovida pelo metabolismo persistente do álcool na homeostasia da cinética do ferro. Assim, esta variante da transferrina normal não será um epifenómeno mas a tradução de uma perturbação característica nesse equilíbrio fisiológico demonstrável em consumidores abusivos persistentes.

Um consumo excessivo de álcool (60-80g/dia durante 4 semanas) causa um aumento, detectável no soro, de transferrina com maior proporção no défice da fracção glucídica desta glicoproteína^{9,12,23}.

Na doença hepática alcoólica, tem sido estudada a nível molecular a razão do aumento desta transferrina anormal no soro, atribuída a disfunção ao nível do aparelho de Golgi induzida pelo etanol, podendo o álcool envolver a diminuição da actividade da glicoproteína glicosiltransferase, ou provocar a redução do número de

receptores específicos a nível do hepatócito, e ainda a alterações induzidas na constituição da transferrina normal devidas não ao etanol mas ao seu metabolito acetaldeído, por este reagir com resíduos de lisina nos locais de actividade das glicotransferases, com consequente efeito negativo para a maturação e secreção das glicoproteínas hepáticas^{1, 24-28}.

É interessante que esta glicoproteína anormal tenha uma elevada actividade transportadora do ferro e maior capacidade de entrega deste metal no hepatócito que a transferrina normal, o que pode apoiar a frequente siderose no fígado do alcoólico crónico²⁹⁻³⁶.

Três factores intervêm no nível da concentração desta transferrina deficiente em carboidratos que condicionam o grau de sensibilidade do teste^{1,37}: a quantidade diária de álcool consumido, a duração do período de consumo e o procedimento técnico, intervalo de tempo entre a colheita de sangue para análise e a interrupção ou moderação do consumo (semivida de 9.5 ± 1 dia)^{16,22,38,40}.

Além destas influências a ter em conta há limitações conhecidas; raros fenótipos de transferrina (carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome) e por vezes em baixas percentagens de algumas formas de doença hepática (cirrose biliar primária e hepatite autoimune, entre outras)^{8,13,19,22,39-41}.

– O objectivo do presente ensaio é o de apreciar o comportamento da *asialotransferrina* sob consumo de álcool e sob influência de doença hepática.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio incidiu em 3 grupos de indivíduos adultos de ambos os sexos tendo em comum o inquérito sobre uso de álcool com testemunho individual, aceite voluntariamente, sobre a presença ou ausência de consumo significativo ou não significativo de bebidas alcoólicas.

– Grupo controlo constituído por 37 indivíduos sem qualquer sinal ou sintoma sugestivo de doença hepática, utilizadores de *check up* clínico-laboratorial para controlo da sua saúde. No inquérito alimentar afirmavam abstinência ou consumo ocasional e reduzido, não significativo, de bebidas alcoólicas; os *marcadores* tradicionais de consumo de álcool (aminotransferases gamaglutamil transpeptidase e valor globular médio) estavam dentro da normalidade, o que sustenta quanto possível a consistência da formação deste grupo de referência;

– Grupo consumidor de bebidas alcoólicas, constituído por 33 indivíduos, internados num hospital geral, com testemunho expresso, aceite voluntariamente no decurso do estudo clínico, de consumo regular de álcool quantificável, podendo formar-se 2 subgrupos: um de 10 casos com consumo de etanol estimado e inferior a 70 gramas/dia e outro de 23 casos com consumo persistente superior a 70 gramas/dia. Este nível de consumo determi-

nante da formação destes subgrupos foi orientado pela captação de álcool indicada como causa da variante de transferrina doseável no soro, no trabalho de referência.

No grupo de doentes com doença hepática, a fim de apreciar a possível influência do estado do fígado no comportamento da transferrina anormal no soro, formaram-se dois subgrupos: um de 19 casos com o diagnóstico de doença hepática não alcoólica (no passado saudável não se anota pelo menos, consumo crónico abusivo) com testemunho expresso de período alargado de abstinência absoluta, muito provavelmente real pela razão da sua doença do fígado conhecida e, por certo, o conselho médico de abstenção; no *Quadro 1* estão individualizados os diagnósticos apoiados em critérios clínicos, bioquímicos, imagiológicos e histológicos aconselhados para cada caso, e consistentes na garantia desses diagnósticos; o outro subgrupo (doença hepática alcoólica) é constituído por 21 casos de consumidores regulares de excesso de álcool com critério de inclusão expresso no *Quadro 2*, valorizando-se a quantificação das pontuações atingidas no índice PGA (todos os casos incluídos atingem pontuações superiores a 6; 60% dos quais com scores de 9 a 12 pontos), tomado como marcador consistente de lesão hepática (*Quadros 3, 4, 5 e 6*).

Quadro 1 –

Doença Hepática não Alcoólica	n
Hepatite Crónica Vírus B + C	12
Cirrose Criptogénica	1
Hepatocarcinoma + VHB	1
Fígado Metastático difuso	2
Hepatite Tóxica colestática	1
Hepatite aguda VHB	1
Colangite Esclerosante	1

Quadro 2 –

Doença Hepática Alcoólica
Critérios de inclusão:
· Consumo ≥ 70 g/Etanol / dia; ≥ 10 Anos**
· Bioquímica consistente **
· Clínica (estigmas de DHC)**
Apoio na pontuação da PGA* para consistência diagnóstica de lesão hepática

* Poynard, 1991; Teare, 1993; Bedossa, 1989; Jiang, 1994; Baranda, 1994⁶¹⁻⁶⁵ – ** Mendenhall, 1987⁶⁶
DHC – doença hepática crónica; PGA – índice (T. protrombina + gamaglutamiltranspeptidase + Apolipoproteína A1)

Quadro 3 – PGA (tempo protrombina + Gamaglutamiltranspeptidase + Apolipoproteína A1)

Pontuação	Lesão Hepática
3-5	S/ lesão ou lesão mínima
6-8	S/-Cirrose C./S. hepatite
9-12	Cirrose C./S. hepatite

Poynard, 1991⁶¹

Quadro 4 – APO A1 (Apolipoproteína A1 - g/l N = 0.94 - 2.06)

Pontuação	Valores Séricos
4	≤ 0.93
3	0.94 - 1.30
2	1.31 - 1.68
1	1.69 - 1.99
0	≥ 2.0

Quadro 5 – GGT (Gamaglutamil - Transpeptidase U.I./l)

Pontuação	Valores Séricos
4	≥ 200
3	100 - 199
2	50 - 99
1	20 - 49
0	≤ 20

Quadro 6 – Tempo Protrombina (% do normal)

Pontuação	Valores Séricos
4	≥ 50
3	50 - 59
2	60 - 69
1	70 - 79
0	≤ 80

A amostra de sangue foi colhida em jejum de 8 horas, no decurso do estudo clínico, aceitando-se o testemunho do doente de pressuposto período de abstinência de 2 a 7 dias para os doentes com consumo regular de bebidas alcoólicas.

TÉCNICAS LABORATORIAIS

CDT – Foi doseado pelo método Radioimunológico (RIA), aparelho de leitura – Contador GAMMA 5500 Counting SYSTEM - BECKMAN, reagentes (Pharmacia CDTeC RIA).

O método baseia-se na saturação da transferrina presente na amostra por uma solução de citrato de ferro e separação das diferentes isoformas por micromatografia troca aniónica, equilibrada em tampão pH 5,65. As transferrinas de P.I. superior a 5,65 (di -, mono e asialotransferrinas) eluídas, vão competir com uma quantidade fixa de transferrina marcada com I 125 para os lugares de união nos anticorpos específicos. As transferrinas livres e ligadas são separadas pela adição de um segundo anticorpo imunoabsorvente, seguido de centrifugação e decantação. A Radioactividade medida no precipitado é inversamente proporcional à quantidade de CDT da amostra.

As amostras e o controlo foram analisados em duplicado. O coeficiente de variação inter ensaios foi de 12,7%. Ferritina – Método IRMA, aparelho de leitura contador GAMMA, reagentes ferritina Coatria (Bio-Mériuex). Apo (a) – Método RIA aparelho de leitura contador GAMMA, reagentes (Pharmacia Apo (a) RIA). A Trans-

ferrina e a actividade enzimática de ALT, AST e GGT – foram efectuadas em Hitachi 911, reagentes Boehringer Mannheim. Transferrina – Método imunoturbidimétrico. ALT e AST – Método recomendado pelo IFCC (Método cinético U.V. sem fosfato de piridoxal). GGT – Método de Szasz (substrato gamaglutamil 3 carboxi - 4- nitroanilida). Ferro – Método da Forrozina directa, reagentes preparados por nós, aparelho de leitura fotómetro Eppendorf PCP 6121. Albumina – Método de verde bromocresol, reagentes Boehringer Mannheim, aparelho de leitura fotómetro Eppendorf PCP 6121. I.S% – Foi determinado pela relação: ferro/c.fixaçãox100. VGM – usou-se o coulter MAXM.

Análise estatística: utilizou-se o teste t de Student para a verificação de hipótese nula entre diferença de médias e Regressão linear - para estudo da correlação do CDT e rácio/transferrina, vs transferrina, I.S% e ferro. Na análise do grau de associação do CDT/status do ferro e índices de disfunção hepática, usou-se o coeficiente de correlação linear de Pearson, e o teste de significancia do (R) de Pearson. Foi utilizado o Software Microsoft Excel.

RESULTADOS

Na avaliação da utilidade diagnóstica do CDT e rácio CDT/Tft na condição e na doença, os resultados do estudo da especificidade (definida como a proporção de indivíduos com a condição, são correctamente identificados - % de verdadeiros negativos) e sensibilidade (definida como a proporção de indivíduos com a condição, são correctamente identificados - % de verdadeiros positivos) são representados no *Quadro 7* para os diversos grupos em análise. Nesta série ressalva a excelente especificidade e razoável sensibilidade para níveis abusivos de consumo crónico de álcool, atendendo ao valor adicional do CDT/Tft com sensibilidade acrescida quer para consumos abusivos quer para a doença hepática alcoólica. Na alteração da homeostasia do ferro induzida pelo etanol, é interessante observar o comportamento da correlação positiva entre transferrina total e a sua variante anormal (CDT) e correlação inversa desta com os restantes índices do status do ferro, *Figura 3*.

Nas *Figuras 1 e 2* apresenta-se a distribuição pontual dos níveis atingidos pelo CDT e rácio CD T/Tft de casos individuais para cada grupo relativamente ao out-off ($x \pm 2SD$) determinado no grupo controlo, respectivamente de 20.5

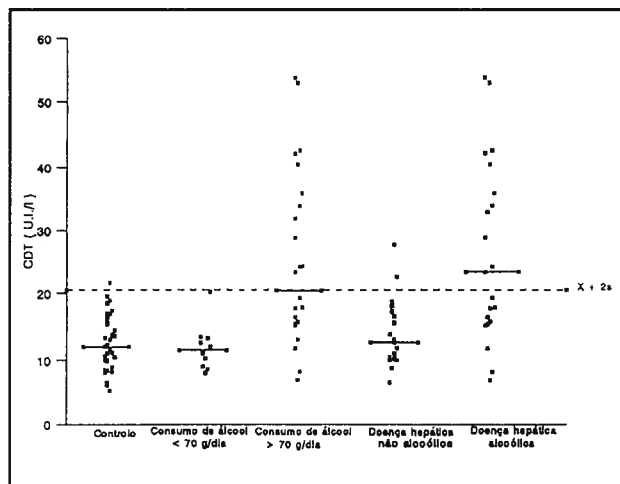


Fig. 1 – Distribuição dos valores de CDT por grupos controlo, consumo de álcool, doença hepática não alcoólica e alcoólica

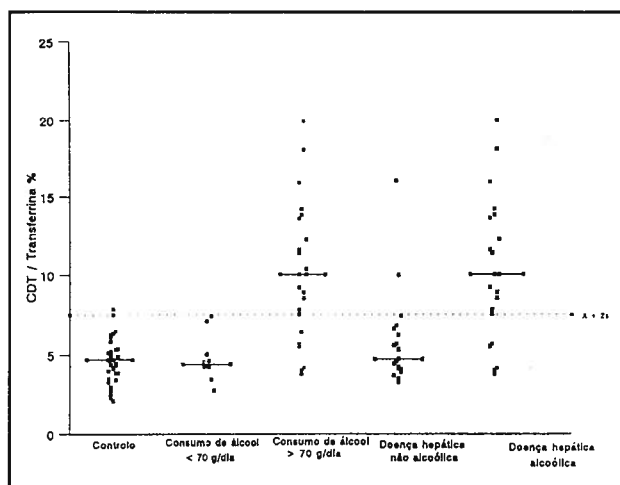


Fig. 2 – Distribuição dos valores de CDT/Transferrina por grupos: controlo, consumo de álcool, doença hepática não alcoólica e alcoólica

U/L para o CDT e de 7.5 para o rácio CDT/Tft (%). O posicionamento dos níveis atingidos, mediana dos valores/grupo (linha a cheio), apresenta-se mais elevado no grupo de consumo de álcool com capacitação média superior a 70g/dia e no grupo de doença hepática alcoólica, sendo mais evidente esse posicionamento relativo do

Quadro 7

	ESPECIFICIDADE		SENSIBILIDADE		
	Controlo N = 37	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	Cons. Álcool > 70g/dia N = 23	Doença Hepática N/ alcoólica N = 19	Doença Hepática N/ alcoólica N = 21
CDT	97.3%	0%	52.2%	10.5%	52.4%
CDT/Transferrina %	96.4%	0%	73.9%	10.5%	76.2%

CDT – Transferrina deficiente em carboidratos; Sensibilidade = verdadeiros positivos / (verdadeiros positivos + falsos negativos); Especificidade = verdadeiros negativos / (Verdadeiros negativos + falsos positivos)

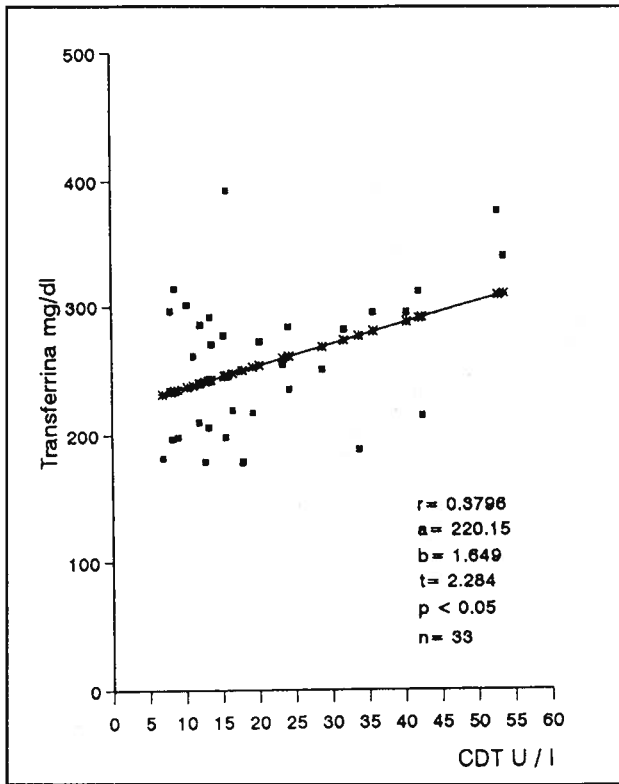


Fig. 3 - Correlação dos resultados obtidos para CDT e Transferrina em indivíduos consumidores regulares de álcool

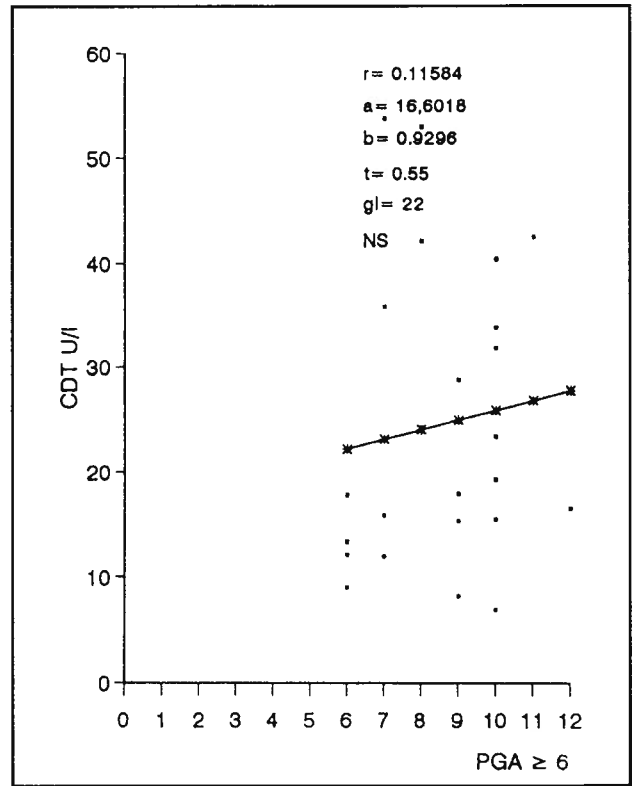


Fig. 5 - Comportamento da relação CDT e índice hepático PGA em consumidores regulares abusivos de álcool

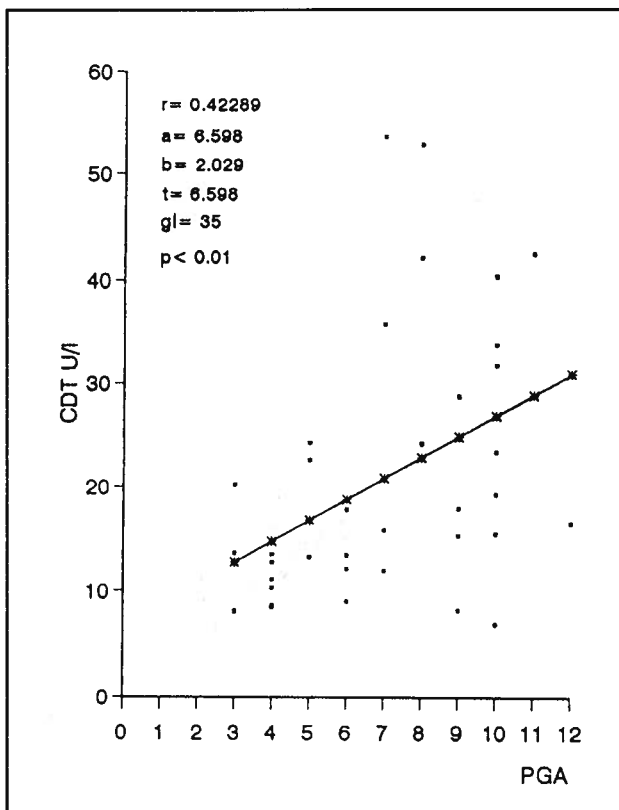


Fig. 4 - Comportamento da relação CDT e índice hepático PGA em consumidores regulares de álcool abusivo e não abusivo

rácio CDT/Tft em ambos os grupos sob análise, o que parece influenciado pelos níveis de consumo de etanol e pela lesão hepática atribuída ao álcool, *Quadro 3*. No estudo comparativo de índices entre os grupos consumo de álcool < 70g/dia e abstinentes (controlo) *Quadro 10*, constata-se que o CDT e rácio de transferrina não são capazes de os distinguir, no entanto, os marcadores convencionais de consumo de álcool marcam diferença significativa para o grupo consumidor. Atendendo às condições técnicas influentes na sensibilidade do método

Quadro 8 - Consumo regular de Álcool. Estudo da Correlação CDT/Índices do Status do Ferro e de Disfunção Hepática

	Controlo N = 37	Cons. álcool < 70g/dia N = 10	Cons. álcool > 70g/dia N = 23
	r	r	r
Siderémia	-0.0923	0.3417	-0.4287*
Transferrina	0.2613	0.7840**	0.5769
I.S. %	0.2790	0.1068	-0.5143
Ferritina	-0.2700	0.2844	-0.570*
VGM	-0.2600	0.3517	-0.100
AST	-0.0127	0.5120	-0.2913
ALT	-0.1447	-0.0038	-0.2287
GGT	-0.0848	-0.0127	-0.3345

* Significância estatística para $p < 0.05$; ** Significância estatística para $p < 0.01$; I.S. - Índice de saturação da transferrina; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - gamaglutamil-transpeptidase; VGM - Volume globular médio

Quadro 9 – Consumo regular de Álcool. Estudo da Correlação Rácio/Transferrina e índices do Status do Ferro e de Disfunção Hepática

	Controlo N = 37	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	Cons. Álcool > 70g/dia N = 23
	r	r	r
Siderémia	-0.06956	-0.05178	-0.4073*
Transferrina	-0.08635	-0.60544**	0.1604
I.S. %	-0.04856	0.1639	-0.3796
Ferritina	-0.33154	-0.4299	-0.4649
VGM	-0.170	-0.130	-0.110
AST	-0.06193	-0.46028	-0.2045
ALT	-0.13605	-0.2415	-0.3329
GGT	-0.13130	-0.0976	-0.3832

* Significância estatística para p<0.05; ** Significância estatística para p<0.01; I.S. -Índice de saturação da transferrina; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - gamaglutamiltanspeptidase; VGM - Volune globular médio

Quadro 10 – Consumo regular de Álcool, Comportamento do CDT e Marcadores Tradiconais

	Abstinentes N = 37	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	P
CDT (U/L)	12.4 ± 4.03	11.9 ± 3.35	
CDT/Tft (%)	4.6 ± 1.52	4.6 ± 1.51	
Siderémia (ug/dl)	98.0 ± 30.7	120.5 ± 65.2	
Trasferrina (mg/dl)	269.0 ± 30.8	267.0 ± 42.04	< 0.01
I.S (%)	23.0 ± 10.2	36.2 ± 16.78	
Ferritina (mg/dl)	133.0 ± 125.5	356 ± 346.4	
Apo A1 (g/l)	1.35 ± 0.4	1.11 ± 0.11	< 0.05
GGT (UI/l)	15.7 ± 9.47	49.2 ± 57.4	< 0.01
AST (UI/l)	12.8 ± 4.29	47.2 ± 40.6	< 0.01
ALT (UI/l)	14.8 ± 6.39	65.2 ± 71.6	< 0.01
VGM (fi)	88.6 ± 6.06	91.2 ± 4.8	

Significância estatística para p<0.05 e 0.01entre 2 grupos; CDT (transferrina deficiente em carboidratos); I.S. -Índice de saturação da transferrina; Apo A1 - Apolipoproteína A1; GGT - gamaglutamiltanspeptidase; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; VGM - Valor globular médio

(colheita de sangue / tempo de abstinência) admite-se que alguns destes casos de consumidores regulares, internados, tenham períodos de abstinência ou moderação superior ou próximos da semi-vida do CDT, o que irá diminuir o valor determinado nesse momento; poderá ser uma objecção pela incerteza nesta condição influente à detecção nas presentes circunstâncias, diferentes por certo das de consumidores regulares no ambulatório.

Dos resultados da presente série, apresentados no *Quadro 11*, o valor do CDT e rácio CDT/Tft é significativamente diferente na comparação entre os dois subgrupos com consumos regulares, embora com captações diferentes. Ambos os índices, contrariamente aos marcadores tradicionais de consumos de álcool, evidenciam proporcionalidade significativa com as captações consideradas. A não correlação entre CDT e rácio da transferrina, *Quadros 8 e 9*, e os marcadores tradicionais sugere que a informação

do CDT e rácio de transferrina é independente e apresenta um valor utilitário discriminativo, nestas condições, para o envolvimento do abuso de álcool o que não sucede com os índices enzimáticos, pois estes são incapazes de distinção entre níveis de consumo (diferença não significativa). Com o aumento da acessibilidade do método e numa perspectiva de prática clínica de cuidados primários, a variante da transferrina e o rácio apresenta uma promissora utilidade no rastreio de consumos regulares abusivos de álcool.

A doença hepática não alcoólica, *Quadro 7 e Fig. 1 e 2*, neste ensaio apresenta uma percentagem global de 10% de possíveis falsos positivos: um caso de hepatocarcinoma e vírus B e um caso de hepatite crónica a vírus B+C, acima do cut-off determinado. Neste subgrupo não há correlação entre CDT e AST/ALT/GGT, *Quadro 12*. Os doentes com doença hepática não alcoólica na sua maioria apresentam um nível normal de CDT e rácio transferrina e anormalidade patente nos marcadores enzimáticos de disfunção hepática, embora estes se apresentem com grande variabilidade individual (S.D. alargado) como é próprio de um grupo não homogêneo embora com um denominador comum de não consumo regular de álcool e de lesão hepática.

No subgrupo de doença hepática atribuída ao consumo abusivo crónico de álcool, encontra-se, *Quadro 12, Fig 1 e 2*, grande frequência de casos com CDT e rácio transferrina elevados e índices tradicionais de disfunção hepática igualmente anormais. Considerado o número de casos com lesão hepática tomada do índice hepático PGA>6, *Quadro 3*, todos com consumos de álcool regular abusivo, não se demonstra uma correlação significativa entre CDT e rácio de transferrina e os índices de gravidade de lesão do fígado. Como no subgrupo anterior, não há correlação entre CDT e rácio e AST/ALT e GGT.

Constata-se que as provas tradicionais não são capazes por si de estabelecerem diferença significativa entre os dois subgrupos (alcoólico v.s. não alcoólico). No entanto, os índices CDT e rácio estabelecem significativa diferença entre os grupos com doença hepática de diferente

Quadro 11 – Consumo regular de Álcool, Comportamento do CDT e Marcadores Tradiconais

	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	Cons. Álcool > 70g/dia N = 23	P
CDT (U/L)	11.9 ± 3.35	25.7 ± 13.3	< 0.01
CDT/Tft (%)	4.6 ± 1.51	10.1 ± 4.28	< 0.01
Siderémia (ug/dl)	120.5 ± 65.2	63.3 ± 41.6	< 0.01
Trasferrina (mg/dl)	267.0 ± 42.04	251 ± 60.8	
I.S (%)	36.2 ± 16.78	21.4 ± 14.44	
Ferritina (mg/dl)	356 ± 346.4	872 ± 160.5	< 0.05
Apo A1 (g/l)	1.11 ± 0.11	0.57 ± 0.33	< 0.01
GGT (UI/l)	49.2 ± 57.4	160.2 ± 209.3	
AST (UI/l)	47.2 ± 40.6	61.8 ± 53.3	
ALT (UI/l)	65.2 ± 71.6	54.1 ± 93.5	
VGM (fi)	91.2 ± 4.8	93.1 ± 6.8	

Significância estatística para p<0.05 e 0.01entre 2 grupos; CDT (transferrina deficiente em carboidratos); I.S. -Índice de saturação da transferrina; Apo A1 - Apolipoproteína A1; GGT - gamaglutamiltanspeptidase; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; VGM - Valor globular médio

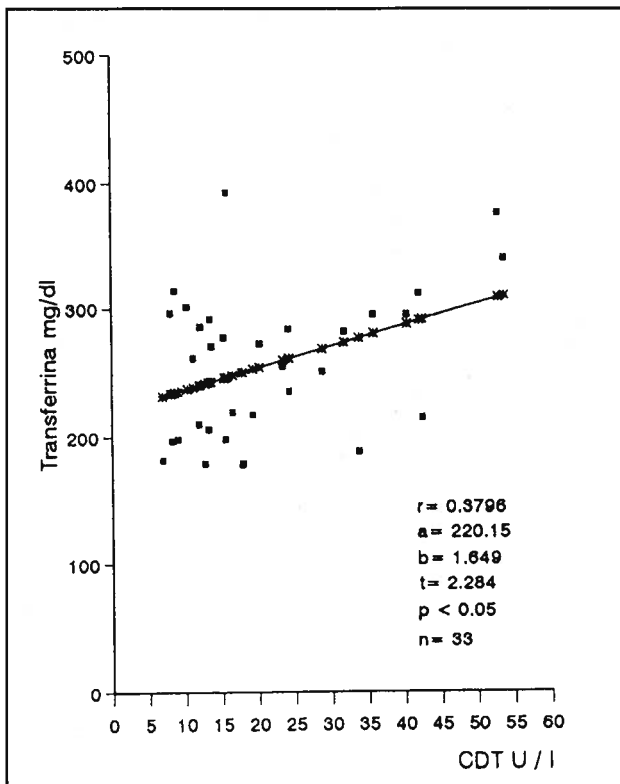


Fig. 3 – Correlação dos resultados obtidos para CDT e Transferrina em indivíduos consumidores regulares de álcool

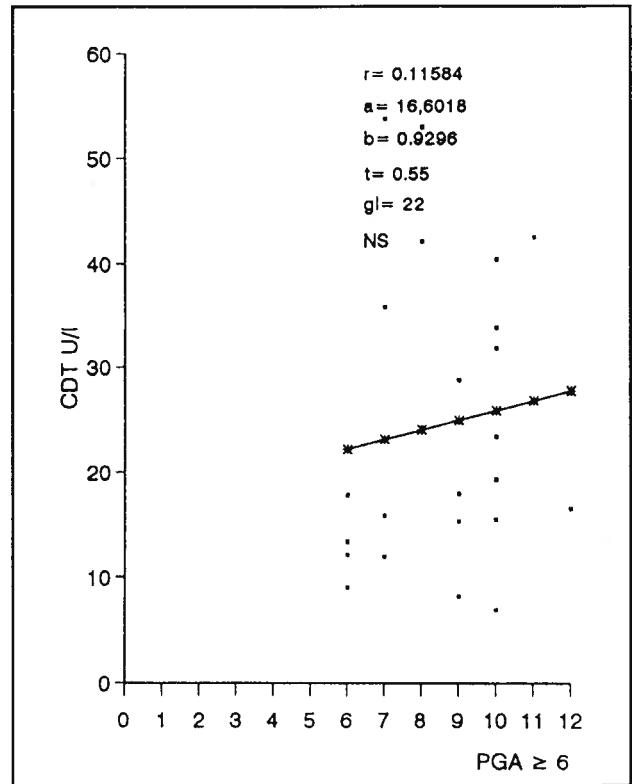


Fig. 5 – Comportamento da realação CDT e índice hepático PGA em consumidores regulares abusivos de álcool

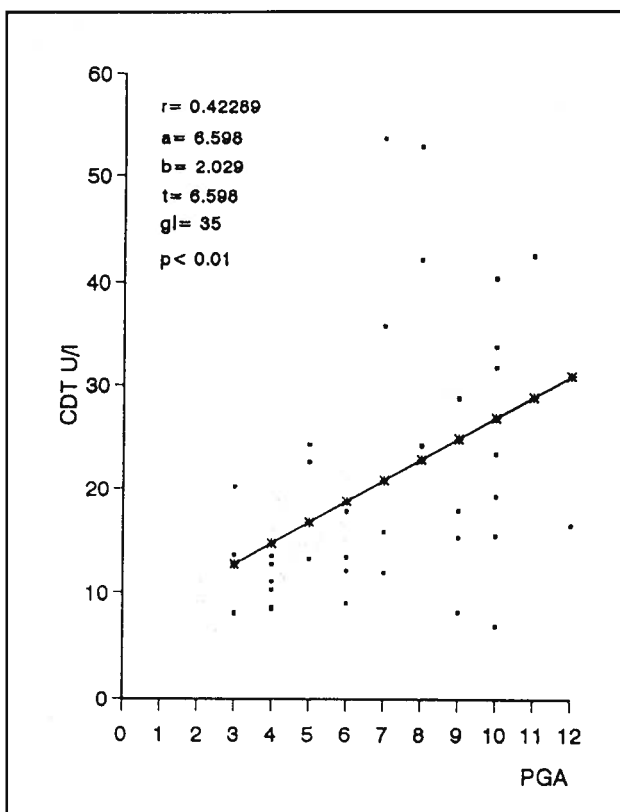


Fig. 4 – Comportamento da relação CDT e índice hepático PGA em consumidores regulares de álcool abusivo e não abusivo

rácio CDT/Tft em ambos os grupos sob análise, o que parece influenciado pelos níveis de consumo de etanol e pela lesão hepática atribuída ao álcool, *Quadro 3*. No estudo comparativo de índices entre os grupos consumo de álcool < 70g/dia e abstinentes (controlo) *Quadro 10*, constata-se que o CDT e rácio de transferrina não são capazes de os distinguir, no entanto, os marcadores convencionais de consumo de álcool marcam diferença significativa para o grupo consumidor. Atendendo às condições técnicas influentes na sensibilidade do método

Quadro 8 – Consumo regular de Álcool. Estudo da Correlação CDT/Índices do Status do Ferro e de Disfunção Hepática

	Controlo N = 37	Cons. álcool < 70g/dia N = 10	Cons. álcool > 70g/dia N = 23
	r	r	r
Siderémia	-0.0923	0.3417	-0.4287*
Transferrina	0.2613	0.7840**	0.5769
I.S. %	0.2790	0.1068	-0.5143
Ferritina	-0.2700	0.2844	-0.570*
VGM	-0.2600	0.3517	-0.100
AST	-0.0127	0.5120	-0.2913
ALT	-0.1447	-0.0038	-0.2287
GGT	-0.0848	-0.0127	-0.3345

* Significância estatística para p<0.05; ** Significância estatística para p<0.01; I.S. -Índice de saturação da transferrina; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - gamaglutamiltranspeptidase; VGM - Volume globular médio

Quadro 9 – Consumo regular de Álcool. Estudo da Correlação Rácio/Transferrina e índices do Status do Ferro e de Disfunção Hepática

	Controlo N = 37	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	Cons. Álcool > 70g/dia N = 23
	r	r	r
Siderémia	-0.06956	-0.05178	-0.4073*
Transferrina	-0.08635	-0.60544**	0.1604
I.S. %	-0.04856	0.1639	-0.3796
Ferritina	-0.33154	-0.4299	-0.4649
VGM	-0.170	-0.130	-0.110
AST	-0.06193	-0.46028	-0.2045
ALT	-0.13605	-0.2415	-0.3329
GGT	-0.13130	-0.0976	-0.3832

* Significância estatística para p<0.05; ** Significância estatística para p<0.01; I.S. -Índice de saturação da transferrina; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; GGT - gamaglutamiltanspeptidase; VGM - Volune globular médio

Quadro 10 – Consumo regular de Álcool, Comportamento do CDT e Marcadores Tradiconais

	Abstinentes N = 37	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	P
CDT (U/L)	12.4 ± 4.03	11.9 ± 3.35	
CDT/Tft (%)	4.6 ± 1.52	4.6 ± 1.51	
Siderémia (ug/dl)	98.0 ± 30.7	120.5 ± 65.2	
Trasferrina (mg/dl)	269.0 ± 30.8	267.0 ± 42.04	< 0.01
I.S (%)	23.0 ± 10.2	36.2 ± 16.78	
Ferritina (mg/dl)	133.0 ± 125.5	356 ± 346.4	
Apo A1 (g/l)	1.35 ± 0.4	1.11 ± 0.11	< 0.05
GGT (UI/l)	15.7 ± 9.47	49.2 ± 57.4	< 0.01
AST (UI/l)	12.8 ± 4.29	47.2 ± 40.6	< 0.01
ALT (UI/l)	14.8 ± 6.39	65.2 ± 71.6	< 0.01
VGM (fi)	88.6 ± 6.06	91.2 ± 4.8	

Significância estatística para p<0.05 e 0.01entre 2 grupos; CDT (transferrina deficiente em carboidratos); I.S. -Índice de saturação da transferrina; Apo A1 - Apolipoproteína A1; GGT - gamaglutamiltanspeptidase; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alamina aminotransferase; VGM - Valor globular médio

(colheita de sangue / tempo de abstinência) admite-se que alguns destes casos de consumidores regulares, internados, tenham períodos de abstinência ou moderação superior ou próximos da semi-vida do CDT, o que irá diminuir o valor determinado nesse momento; poderá ser uma objecção pela incerteza nesta condição influente à detecção nas presentes circunstâncias, diferentes por certo das de consumidores regulares no ambulatório.

Dos resultados da presente série, apresentados no *Quadro 11*, o valor do CDT e rácio CDT/Tft é significativamente diferente na comparação entre os dois subgrupos com consumos regulares, embora com captações diferentes. Ambos os índices, contrariamente aos marcadores tradicionais de consumos de álcool, evidenciam proporcionalidade significativa com as captações consideradas. A não correlação entre CDT e rácio da transferrina, *Quadros 8 e 9*, e os marcadores tradicionais sugere que a informação

do CDT e rácio de transferrina é independente e apresenta um valor utilitário discriminativo, nestas condições, para o envolvimento do abuso de álcool o que não sucede com os índices enzimáticos, pois estes são incapazes de distinção entre níveis de consumo (diferença não significativa). Com o aumento da acessibilidade do método e numa perspectiva de prática clínica de cuidados primários, a variante da transferrina e o rácio apresenta uma promissora utilidade no rastreio de consumos regulares abusivos de álcool.

A doença hepática não alcoólica, *Quadro 7 e Fig. 1 e 2*, neste ensaio apresenta uma percentagem global de 10% de possíveis falsos positivos: um caso de hepatocarcinoma e vírus B e um caso de hepatite crónica a vírus B+C, acima do cut-off determinado. Neste subgrupo não há correlação entre CDT e AST/ALT/GGT, *Quadro 12*. Os doentes com doença hepática não alcoólica na sua maioria apresentam um nível normal de CDT e rácio transferrina e anormalidade patente nos marcadores enzimáticos de disfunção hepática, embora estes se apresentem com grande variabilidade individual (S.D. alargado) como é próprio de um grupo não homogêneo embora com um denominador comum de não consumo regular de álcool e de lesão hepática.

No subgrupo de doença hepática atribuída ao consumo abusivo crónico de álcool, encontra-se, *Quadro 12, Fig 1 e 2*, grande frequência de casos com CDT e rácio transferrina elevados e índices tradicionais de disfunção hepática igualmente anormais. Considerado o número de casos com lesão hepática tomada do índice hepático PGA>6, *Quadro 3*, todos com consumos de álcool regular abusivo, não se demonstra uma correlação significativa entre CDT e rácio de transferrina e os índices de gravidade de lesão do fígado. Como no subgrupo anterior, não há correlação entre CDT e rácio e AST/ALT e GGT.

Constata-se que as provas tradicionais não são capazes por si de estabelecerem diferença significativa entre os dois subgrupos (alcoólico v.s. não alcoólico). No entanto, os índices CDT e rácio estabelecem significativa diferença entre os grupos com doença hepática de diferente

Quadro 11 – Consumo regular de Álcool, Comportamento do CDT e Marcadores Tradiconais

	Cons. Álcool < 70g/dia N = 10	Cons. Álcool < 70g/dia N = 23	P
CDT (U/L)	11.9 ± 3.35	25.7 ± 13.3	< 0.01
CDT/Tft (%)	4.6 ± 1.51	10.1 ± 4.28	< 0.01
Siderémia (ug/dl)	120.5 ± 65.2	63.3 ± 41.6	< 0.01
Trasferrina (mg/dl)	267.0 ± 42.04	251 ± 60.8	
I.S (%)	36.2 ± 16.78	21.4 ± 14.44	
Ferritina (mg/dl)	356 ± 346.4	872 ± 160.5	< 0.05
Apo A1 (g/l)	1.11 ± 0.11	0.57 ± 0.33	< 0.01
GGT (UI/l)	49.2 ± 57.4	160.2 ± 209.3	
AST (UI/l)	47.2 ± 40.6	61.8 ± 53.3	
ALT (UI/l)	65.2 ± 71.6	54.1 ± 93.5	
VGM (fi)	91.2 ± 4.8	93.1 ± 6.8	

Significância estatística para p<0.05 e 0.01entre 2 grupos; CDT (transferrina deficiente em carboidratos); I.S. -Índice de saturação da transferrina; Apo A1 - Apolipoproteína A1; GGT - gamaglutamiltanspeptidase; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alamina aminotransferase; VGM - Valor globular médio

natureza, sendo capazes de incriminar o envolvimento do álcool na promoção da doença hepática crónica em estudo, pois assistem melhor à afirmação ou exclusão deste factor de risco potencial, pelo menos nas captações consideradas.

O rácio AST/ALT nesta série é superior à unidade no grupo da doença hepática alcoólica (sugestivo) e inferior no subgrupo de doença hepática não alcoólica, contudo não há diferença significativa deste rácio entre os dois subgrupos.

O comportamento da transferrina total é praticamente semelhante em ambos os subgrupos e portanto não influenciador no significado relativo do rácio CDT/Tft, valorizando-se o determinismo da variante da transferrina (CDT) no comportamento dos níveis atingidos no subgrupo da doença hepática alcoólica.

É interessante o comportamento do valor da apolipoproteína A1 nos dois subgrupos de doença hepática, com diferença significativa desta variável influente no índice PGA.

A diferença significativa dos níveis de albumina será devida ao estado avançado da doença hepática no subgrupo de doença hepática alcoólica.

DISCUSSÃO

O CDT tem sido relacionado com a detecção e monitorização de consumo abusivo crónico de álcool com elevada especificidade e razoável sensibilidade, parecendo depender apenas indirectamente do nível de consumo.^{3,7,8,13,19,23}

No presente ensaio evidencia-se a excelente especificidade do método, (apenas cerca de 3% de falsos positivos nos abstinentes) valor semelhante ao de outras séries^{7,8,19}, e razoável sensibilidade como marcador de consumos abusivos persistentes. Contudo, quer o CDT quer o rácio de transferrina não dão qualquer sinal de distinção de níveis considerados não abusivos verso abstinentes.^{1,42}

O nível de sensibilidade nesta série (52.2%) é inferior ao de séries publicadas na literatura (61-91%)^{1,3,8,22,38,43}, no entanto o rácio CDT/Tft melhora a sensibilidade adi-

cional do método para níveis bastante aceitáveis (74%) no grupo de consumo abusivo, tal como é valorizado em outras séries.⁴⁴⁻⁴⁷

Tratando-se de doentes internados e atendendo à semi-vida muito breve^{16,22,38}, é necessário que o sangue seja colhido no período curto de pós-admissão para eliminar falsos negativos. É admissível que na presente série o nível de sensibilidade real esteja subavaliado por abstinência excedentária em alguns casos.

Esta admissibilidade prenuncia a utilidade do método na monitorização do tratamento ou recuperação de alcoólicos no ambulatório.²²

Os níveis da variante da transferrina e do rácio de transferrina mostram-se de maior valor informativo e independente que os marcadores tradicionais de consumos abusivos crónicos, pois são proporcionais a captações excessivas (factor de risco), pelo menos para o cut-off determinado, consistente com outras séries.^{11,23,38} Embora os níveis das enzimas hepáticas sejam superiores aos abstinentes em ambos os subgrupos de diferentes captações médias, estes marcadores tradicionais não são capazes de distinguir entre os dois subgrupos de consumidores, o que contrariamente não sucede com o CDT e rácio que apresenta uma diferença significativa.

Não havendo correlação entre CDT e rácio com os marcadores tradicionais de consumo regular de álcool^{1,40,42,43,45-47} e, sabendo-se que os níveis de consumo a que os resultados laboratoriais tradicionais se tornam anormais sofrem grandes variações individuais por múltiplas influências^{3,48}, reforça-se o apoio da utilidade do CDT e rácio nesta área.

Como noutras séries encontra-se uma relação positiva estreita entre CDT e transferrina total e não correlação com a siderémia, o que fundamenta uma perturbação da cinética do ferro nos consumidores persistentes de álcool, consistente com outros estudos.^{40,46,49}

O CDT e rácio por si só são capazes de escrutinar na maioria dos casos estas quantidades de consumos abusivos regulares de álcool, frequentemente atingidos na nos-

Quadro 12 – Doença Hepática Crónica Alcoólica e não Alcoólica (Comportamento de índices Biológicos)

	Abstinentes N = 37	Doença Hepática Não Alcoólica N = 19	Doença Hepática Alcoólica N = 21	P
CDT (U/L)	12.4 ± 4.03	14.0 ± 5.06	26.4 ± 13.64	< 0.01
CDT/Tft (%)	4.6 ± 1.52	5.8 ± 2.88	10.3 ± 4.50	< 0.01
Siderémia (ug/dl)	98.0 ± 30.7	100.8 ± 44.4	63.3 ± 42.62	< 0.05
Trasferrina (mg/dl)	269.0 ± 30.8	257.1 ± 60.6	254.0 ± 62.7	
I.S (%)	23.0 ± 10.2	33.3 ± 16.9	21.4 ± 15.2	< 0.05
Ferritina (mg/dl)	133.0 ± 125.5	818.0 ± 1048.7	885.0 ± 1604.1	
Apo A1 (g/l)	1.35 ± 0.4	0.83 ± 0.32	0.55 ± 0.30	< 0.01
GGT (UI/l)	15.7 ± 9.47	75.2 ± 111.01	172.0 ± 215.25	
AST (UI/l)	12.8 ± 4.29	91.7 ± 131.70	63.8 ± 55.24	
ALT (UI/l)	14.8 ± 6.39	105.6 ± 149.90	55.3 ± 99.80	
ALB (g/dl)	4.98 ± 0.62	4.05 ± 0.88	2.88 ± 0.50	< 0.01
VGM (fi)	88.6 ± 6.06	91.2 ± 4.8	95.0 ± 8.80	

Significância estatística para $p < 0.05$ e 0.01 entre 2 grupos de D. Hepática; CDT - transferrina deficiente em carboidratos; I.S. - Índice de saturação da transferrina; Apo A1 - Apolipoproteína A1; GGT - gama glutamyltranspeptidase; AST - asparto aminotransferase; ALT - Alamina amino- transferase; ALB albumina; VGM - Valor globular médio

sa população, apontando-os como índices exploratórios com interesse prático, essencialmente pela sua excelente especificidade, na detecção destes consumos de risco, independentes ou não do alcoolismo.^{19,40,50-54,67}

A doença hepática alcoólica atinge no Ocidente metade a 2/3 de todos os casos da doença hepática crónica.⁵⁵ A determinação do envolvimento de factores de risco plausíveis na promoção de uma doença hepática crónica em estudo é fundamental para uma racional estratégia terapêutica e de prevenção. O álcool, entre nós, é uma frequente causa interveniente independente ou associada de um largo espectro da doença do fígado. É necessário demonstrar com consistência a presença ou ausência deste factor de risco nos doentes hepáticos crónicos.

Pelos resultados obtidos e como em outras séries, a doença hepática alcoólica parece ter influência aparente no nível anormal do CDT e do rácio.^{52,56,57} No entanto, a gravidade da lesão hepática não interfere apreciavelmente nos níveis séricos de CDT e rácio de transferrina, como parece igualmente não haver correlação na associação rácio de transferrina e a gravidade clínica da cirrose hepática alcoólica tomada pela classificação de Child-Pugh.^{68,69} Como em outros, os níveis destes índices são pouco afectados pela doença hepática não alcoólica, embora se encontrem séries de doentes com doença hepática não alcoólica com CDT falsos positivos presumíveis, nomeadamente cirrose biliar primária (16%) e na hepatite crónica vírica C (11%) entre outras.^{43,59} Na presente série a percentagem de falsos positivos é muito baixa.

Os resultados evidenciam em frequência útil o poder discriminativo quer do CDT quer do rácio CDT/Tft capaz de destrinçar a atribuição da natureza alcoólica verso não alcoólica da doença hepática em estudo, o que é consistente com outras séries.⁵⁸

O valor indicativo destes índices é relevado pela não correlação destes com os marcadores tradicionais de doença hepática que se mostram incapazes de escrutinar por si doença do fígado de natureza diferente (álcool não álcool), pelo menos, não serão definitivos quanto ao envolvimento deste factor de risco na doença hepática.

AGRADECIMENTO

À Sr.^a D. Lúcia R. Jesus, secretária da Direcção do INSA, o trabalho de impressão do texto.

À Pharmacia pela disponibilidade do CDText.

BIBLIOGRAFIA

1. STIBLER H, BORG S, JOUSTRA M: Microanion-exchange chromatography of carbohydrate-deficient transferrin in serum in relation to alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 1986; 10: 535-544
2. SILLANAÜKE P, SEPPAS K, KOIVULA T A: Association of a haemoglobinacetaldehyde adduct with questionnaire results on heavy drinkers. *Alcohol*, *Alcohol* 1991; 26: 519-525
3. LINDROS K: Alcoholic Liver disease: pathobiological aspects. *J of Hepatology* 1995; 23: 7-15
4. MEZEY E: Interaction between alcohol and nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Seminars in Liver Disease* 1991; 11: 340-348
5. SKINER HA, HOLT S, ISRAEL Y: Early identification of alcohol abuse: clinical and laboratory indicators. *Can Med Assoc J* 1991; 124: 1279-1294
6. WATSON C, TILLES-KJOR C, HOODECHECK EA et al: Do alcoholics give valid self-reports? *J. of Studies on Alcohol* 1984; 45: 344-384
7. STIBLER H, SYDOW O, BORG S: Quantitative estimation of abnormal microheterogeneity of serum transferrin in alcoholics. *Pharmacol Biochem Behav* 1980; 13 (Suppl 1): 47-51
8. KAPUR A, WILD G, MILFORD WA, TRIGER DR: Carbohydrate-deficient transferrin: a marker for alcohol abuse. *Br Med J* 1989; 299: 427-431
9. MIHAS M, TAVASSOLI M: Laboratory markers of ethanol intake and abuse: a critical appraisal. *Am J Med Sci* 1991; 303: 415-428
10. ROSMAN AS, LIEBER CS: An overview of current and emerging markers of alcoholism in: Litten RZ, Allen JP, eds. *Measuring Alcohol Consumption*. Ottawa, NJ: Human Press 1992: 94-134
11. SALASPURO M: Conventional and coming laboratory markers of alcoholics and heavy drinking. *Alcohol Clin Exp Res*, 1986; 10: 55-125
12. ROSMAN AS: Utility and evaluation of biochemical markers of alcohol consumption. *Substance Abuse* 1992; 4: 277-297
13. POTTER B: Carbohydrate-deficient transferrin and the detection of alcohol abuse: a horse of a different color? *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 774-777
14. SPIK G, BAYARD B, FOURENT S et al: Studies on glycoconjugates. LXIV. Complete structure of two carbohydrate units of human serotransferrin. *FEBS. Lett* 1975; 50: 296-299
15. SCHELLEMBERG F, WEILD J: Serum desialotransferrin in the detection of alcohol abuse. definition of Tf index. *Drug Alcohol Depend* 1987; 19: 181-199
16. STOREY EL, MACK V, POWELL LW, HALLIDAY JW: Use of chromatofocusing to detect a transferrin variant in serum of alcoholics subjects. *Clin Chem* 1985; 31: 1543-1545
17. BEAN P, PETER JB: A new approach to quantitative carbohydrate-deficient transferrin isoforms in alcohol abusers: partial iron saturation in isoelectric focusing / immunoblotting and laser densitometry. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 1163-1170
18. ALLEN JP, LITTEN RZ, ANTON RF, CROSS GM: Carbohydrate-deficient transferrin as a measure of immoderate drinking: remaining issues. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 799-812
19. STIBLER H, BORG S, JOUSTRA M: A modified method for the assay of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) in serum. *Alcohol Alcohol* 1991 (Suppl 1): 451-454
20. XIN Y, LARKER JM, ROSMAN AS, LIEBER CS: Isoelectrofocusing / western blotting: a novel and practical method for quantitative of carbohydrate-deficient transferrin in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 814-821
21. LOF K, KOIVULA T, SEPPA K et al: Semi-automatic method for determination of different isoforms of carbohydrate-deficient transferrin. *Clin Chem Act* 1993; 217: 175-186
22. JEPSSON J-O, KRISTENSSON H, FIRMIANI C: Carbohydrate deficient transferrin quantified by HPLC to determine heavy consumption of alcohol. *Clin Chem* 1993; 39: 2115-2220
23. STIBLER H: Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem*, 1991; 37: 2029-2037
24. GUASH R, RENAN-PIQUERAS J, GUENI C: Chronic ethanol consumption induces accumulation of proteins in the liver Golgi apparatus and decrease galactosyl-transferase activity. *Alcohol Clin Exp Res* 1992; 16: 942-948
25. KONGO Y: Sialic acid in chronic alcoholics. *Alcohol and Metabolism* 1984; 3: 58-62
26. WICKRAMASINGLE SN, MARJOT DH, ROSALKI S, FINK RS: Correlations between serum proteins modified by acetaldehyde and biochemical variables in heavy drinkers. *Clin Pathology*, 1989; 42: 295-299
27. WANG J-S, TSUTSUMI M, KESHIMA Y et al: Analysis of the characteristics of micro-heterogeneity of various serum glycoproteins in chronic alcoholics. *Alcohol*, *Alcoholism* 1993; 28: 21-28
28. KAWAHARA H, MATSUDA Y, TSUCHISMA R et al: Effects of ethanol and acetaldehyde on the maturation of hepatic secretory glycoproteins. *Alcohol*, *Alcoholism* 1993; 28: 29-35
29. POTTER BJ, CHAPMAN RWG, NUNES RM et al: Transferrin metabolism in alcoholic liver disease. *Hepatology* 1985; 5: 714-721
30. GHOSH P, OKOH C, LIN Q-H, LAKSHMAN MR: Effects of chronic ethanol on hepatic glycosylation enzymes in the rat: possible mechanisms for increased appearance of serum carbohydrate-deficient transferrin. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 576-579
31. BATEY RG, LIN R: Carbohydrate-deficient transferrin: specific markers of regular ethanol ingestion? *Hepatology*, 1990, 12: 977 (abstr)
32. BATEY RG, PATTERSON F: Carbohydrate-deficient transferrin in

- the alcohol consuming rat model. *Alcohol* 1991; 8: 487-490
33. REGOECZI E, CHINDEMI PA, DEBANNE MT: Transferrin glycans: a possible link between alcoholism and hepatic siderosis. *Alcoholism*, 1984; 8: 287-292
 34. RUDOLPH JR, REGOECZI E, CHINDEMI PA, DEBANNE MT: Preferential hepatic uptake of iron from rat asialotransferrin: possible engagement of two receptors. *Am J of Physiology*, 1986; 254: 3984-404
 35. DEKKER CJ, KROSS MJ, VANDER H, VAN EIJK HG: Uptake of sialo and asialotransferrin of a heterologous and a homologous systems. *Int J Biochem* 1985; 17: 701-706
 36. ZANG H, LONEY LA, POTTER BJ: The effect of chronic alcohol feeding on iron status and ferritin uptake by rat hepatocytes. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 394-400
 37. VERNET M, RENVERSEZ JC, REVENANT MC et al: Étude multicentrique du dosage de la transferrin déficiente en acide sialique par deux techniques chromatographiques. *Ann Biol Clin* 1994; 52: 535-546
 38. GJERD H, JOHNSEN J, BJORNEBOE A et al: A comparison of serum carbohydrate-deficient transferrin with other biological markers of excessive drinking. *Scand J Clin Lab invest* 1988; 48:14
 39. YAMAUCHI M, HIRAKAWA J, MAEZWA Y et al: Serum level of carbohydrate-deficient transferrin as a marker of alcoholic liver disease. *Alcohol, Alcoholism* 1993; 28: 3-8
 40. BELL H, TALLAKSEN C, SJAHEIM T et al: Serum carbohydrate-deficient transferrin as a marker of alcohol consumption in patients with chronic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 246-252
 41. YAMASHITA K, IDEO H, OKKURA T et al: Sugar chains of serum transferrin from patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Biol Chem* 1993; 268: 5783-5789
 42. SILLANAUKEE P: Identification of harmful drinking at an early phase. 11st European Congress of International Federation of Clinical Chemistry, Tampere, Finlandia 1995; 147 (abstr.)
 43. BEHRENS VJ, WORNER TM, BRADY LF et al: Carbohydrate-deficient transferrin, a marker for chronic alcohol consumption in different ethnic populations. *Alcohol Clin Exp Res* 1988; 12: 427-432
 44. FLETCHER M, KWOTH-GAIN I, POWELL M et al: Markers of chronic alcohol ingestion in patients with nonalcoholic steatohepatitis: an aid to diagnosis. *Hepatology* 1991; 13: 455-459
 45. MADDREY, WC: Chronic hepatitis in: *Disease-a-Mouth* Roger C Bone (ed) 1993; 39: 53-126
 46. STIBLER H, DAHLGREN L, BORG S: Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) in serum in woman with early alcohol addiction. *Alcohol* 1988; 5: 393-398
 47. STIBLER H, HULTCRANTZ R: Carbohydrate-deficient transferrin in serum in patients with liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 1987; 11: 468-473
 48. COMIGRAVE K, SAUNDERS JB, WHIFFIELD JB: Diagnosis tests for alcohol consumption. *Alcohol, Alcoholism*, 1995; 30: 13-98
 49. YONG G, KAN NOORT WL, FEELDERS RA et al: Adaptation of transferrin protein and glycan synthesis. *Clin Chem Acta* 1992; 212: 27-45
 50. NILSSEN O: The Troms study: identification of and a controlled intervention on a population of early stage risk drinkers. *Prev Med*, 1991; 20: 518-528
 51. GODSELL PA, WHIFFIELD JB, COMIGRAVE KM et al: Carbohydrate-deficient transferrin levels in hazardous alcohol consumption. *Alcohol, Alcoholism*, 1995; 30: 6146
 52. DECREY H; Screening of alcohol abuse by the primary care physician 1st European Congress of International Federation of Clinical Chemistry, Tampere, Finlandia 1995; 148 (abstr.)
 53. NIEMETA O: Future directions in an alcohol marker research. 1st European Congress of International Federation of Clinical Chemistry, Tampere, Finlandia 1995; 150 (abstr.)
 54. CRABB DW: Biological markers for increased risk of alcoholism and for quantification alcohol consumption. *Clin Invest* 1990; 85: 311-315
 55. SHERMAN D, WILLIAMS R: Liver transplantation and the alcoholic patient. *Alcohol, Alcoholism* 1995; 30: 141-143
 56. ROSMAN AS, LIEBER CS: Diagnostic utility of laboratory tests in alcoholic liver disease. *Clin Chem* 1994; 40: 1641-1651
 57. BELL H: Markers of alcohol consumption: effect of liver disease. 11st European Congress of International Federation of Clinical Chemistry, Tampere Finlandia 1995; 149 (abstr.)
 58. RUBIO M, CABALLERIA J, DEULOFOEN R et al: Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as a marker of alcohol consumption in patients with liver disease. *Hepatology* 1994; 21 (Suppl 1): 586 (abstr.)
 59. TAKASE S, TAKADA A, TSUTSUMI M, MATSYDA Y: Biochemical markers of chronic alcoholism. *Alcohol* 1985; 2: 405-410
 60. BELL H, CHANTAL ME, TALLAKSEN C et al: Carbohydrate-deficient transferrin and other markers of high alcohol consumption: a study of 502 patients admitted consecutively to a medical department. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 1 103-1 108
 61. POYNARD T, AUBERT A, BEDOSSA P et al: A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology* 1991; 100: 1397-1402
 62. TEARE JP, SHERMAN D, GREENFIELD SM et al: Comparison of serum procollagen III peptide concentrations and PGA index for assessment of hepatic fibrosis. *Lancet*, 1993; 342: 891-894
 63. BEDOSSA P, POYNARD T, ABELLA A et al: Apolipoprotein A1 is a serum and tissue marker of liver fibrosis in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 1989; 13: 829-833
 64. JIANG JJ, SALVUCCI M, THEPORT V et al: PGA score in diagnosis of alcoholic fibrosis. *Lancet*, 1994; 343:803
 65. BARANDA J, MINISTRO P, AMARO et al: Score PGA: validação da sua utilidade em 35 doentes com hábitos alcoólicos marcados. XIV Congresso N. de Gastroenterologia, 1994, Livro Resumos, pp 250 (abstr.)
 66. MENDENHALL CL: Alcoholic hepatitis, in: *Disease of the Liver*, 6th ed Schiff, J B Lippincott, Philadelphia 1987; pp: 669-685
 67. CARLSSON AV, HILTUNEN AJ, BECK O et al: Detection of relapses in alcohol-dependent patients: comparison of carbohydrate-deficient transferrin in serum, 5 hydroxy-tryptophol in urine, and self-reports. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 703-708
 68. CALDWELL SH, HALLIDAY JW, FLETCHER LM et al: Carbohydrate-deficient transferrin in alcoholics with liver disease. *J Gastroenterol and Hepatology*, 1995; 10: 174-178
 69. NIEMELÄ O, SERVAJARVIJ, BLAKE JE, ISRAEL Y: Relationship of carbohydrate - deficient transferrin to the severity of alcoholic liver disease. *Alcohol and Alcoholism*, 1995; 30: 561 (abstr)