

## 알코올 의존 환자에서 탄수화물결핍 트랜스페린과 신경성장인자의 변화

전찬민\* · 박병양\* · 변정현\* · 이병철\* · 함병주\* · 허미나\*\* · 최인근\*†

### The Alteration of Carbohydrate-Deficient Transferrin and Nerve Growth Factor in the Patients with Alcohol Dependence

Chan-Min Jeon, M.D.,\* Bong-Yang Park, M.D.,\* Jung-Hyun Byun, M.D.,\*  
Bong-Chul Lee, M.D.,\* Byung-Joo Ham, M.D.,\*  
Mina Hur, M.D.,\*\* Ihn-Geun Choi, M.D.\*†

#### ABSTRACT

**Objectives** : Recent studies have raised the possibility that nerve growth factor(NGF) is abnormally regulated in the central nervous system(CNS) of animal models with alcohol dependence. The possible alteration of NGF by prolonged alcohol intake may play an important role in alcohol-induced neurotoxicity. Carbohydrate-deficient transferrin(CDT) is regarded as a reliable biological marker of alcohol dependence. The goal of this study was to estimate the changes of %CDT and serum NGF level according to the duration of alcohol abstinence, and to identify whether %CDT level is associated with the serum NGF level in the patients with alcohol dependence.

**Methods** : The subjects were 24 patients with alcohol dependence. We used the Axis-Shield ASA to measure the %CDT level and the enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) to measure the serum NGF level. %CDT and NGF levels were measured immediately after the admission and at 2 weeks after the admission.

**Results** : Decreased %CDT were observed during the period of 2 weeks after the admission. NGF level was not significantly different after 2 weeks. The NGF levels were not correlated with %CDT. The possibility of %CDT as a predictor of alcohol-induced neurotoxicity was not confirmed.

**Conclusion** : Serum NGF levels is not a reliable indicator of abstinence state in the patients with alcohol dependence. Further studies are needed to evaluate the relation between two indicators in regard to hematological and neurological changes in alcohol dependence.

**KEY WORDS** : Alcohol dependence · Carbohydrate-deficient transferrin · Nerve growth factor · Neurotoxicity.

\*한림대학교 의과대학 신경정신과학교실

Department of Neuropsychiatry, College of Medicine, Hallym University, Chuncheon, Korea

\*\*한림대학교 의과대학 진단검사의학과학교실

Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Hallym University, Chuncheon, Korea

†교신저자 : 최인근, 150-719 서울 영등포구 영등포동 94-200번지

전화) (02) 2639-5460, 전송) (02) 2677-9095, E-mail) ihngeun@hallym.or.kr

## 서 론

장기간의 알코올 섭취는 다양한 종류의 신경 손상을 초래할 수 있고, 이것은 뇌의 여러 영역에서 세포 소멸을 증가시키거나 세포 증식을 감소시킨다.<sup>1)2)</sup> 알코올 의존 환자의 뇌에 대한 최근의 연구들은 해마, 해마외 피질, 기저전뇌에서의 병리가 기억력 감퇴를 유도한다는 점을 지적하고 있다.<sup>3)4)</sup> 만성적인 알코올 유도 독성 작용에 연관된 기전이 아직 명확하게 밝혀지지 않았지만, 최근의 연구들은 장기간의 알코올 섭취가 학습과 기억을 포함한 인지 기능에 중요한 역할을 하는 neurotrophin의 합성에 영향을 준다고 보고하고 있다.<sup>5)6)</sup> Neurotrophin은 중추 신경계의 발달과 신경 생존의 많은 면에서 중요한 것으로 보인다.<sup>7)</sup>

NGF(Nerve growth factor)는 neurotrophin 군 중에서 가장 먼저 알려진 인자이다.<sup>8)</sup> NGF는 중추신경계에서 기억, 학습 과정과 연관되어 있는 콜린성 뉴런의 발달과 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>9)10)</sup> 게다가, NGF는 뇌 손상 이후와 노화 과정 동안에 인지 기능의 변화와 관련이 있으며, 중추 신경계 뉴런의 신경 가소성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>8)</sup> 따라서, 장기간의 알코올 섭취에 의한 NGF의 변화가 알코올 유도 신경 독성과 이로 인한 인지 기능 손상에 중요한 역할을 할 수 있다. 최근의 연구들에서, 만성 에탄올 처치 후에 동물 모델의 중추 신경계에서 NGF가 비정상적으로 조절된다고 보고되고 있다.<sup>11-14)</sup> 그러나, 알코올에 대한 만성적 노출과 neurotrophin의 상호작용에 대한 연구는 논쟁점으로 남아 있다.<sup>15)16)</sup>

알코올 의존의 생물학적 표지자로 주목 받고 있는 탄수화물결핍 트랜스페린(carbohydrate-deficient transferrin, CDT)은 간에서 생성되는 트랜스페린의 변이형이다. 트랜스페린은 sialylation의 정도에 따라서 pentasialo, tetrasialo, trisialo, disialo, monosialo, asialo의 적어도 여섯 개의 변이형으로 존재한다.<sup>17)</sup> 정상인에 비해 알코올 의존 환자들에서 탄수화물이 결핍된 트랜스페린이 많이 존재한다는 사실이 1986년에 처음 밝혀졌다.<sup>18)</sup> 정상인에서는 tetrasialo 변이형이 대부분이지만 음주 과다 상태가 되면 asialo, monosialo, disialo 변이형들이 증가하는데, 이들이 CDT로 정의된다. CDT는 세계적으로 일차 진료 환경에서 고위험 환자의 선별을 위해 사용되는 추세이고<sup>19)</sup>

알코올성 질환의 표지자 중 유일하게 미국 식품의약청의 공인을 받았다.<sup>20)</sup> 혈중 CDT의 농도는 정량적으로 얻어진 절대치(U/L)나 총 트랜스페린에 대한 상대치(%CDT)의 두 가지 검사법이 있다. CDT의 절대치는 트랜스페린 생성 자체의 변화를 초래할 수 있는 임신이나 빈혈, 심한 간 질환 등과 같은 다양한 병적 상태에 의해 영향을 받을 수 있는 반면, 이후에 개발된 %CDT의 측정은 이런 경우에도 민감도와 특이도가 양호하다는 장점이 있으며 성별에 따라 정상치를 달리 적용할 필요가 없다.<sup>21)</sup>

본 논문의 목적은 알코올 의존 환자에서 NGF와 알코올 과다 섭취의 표지자로서 유용성이 인정된 %CDT의 상관관계를 규명함으로써, %CDT를 측정하여 알코올 유도 신경 독성의 정도를 예측할 수 있는지 알아 보는데 있다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

2005년 8월부터 2006년 7월까지 한림대학교 부속 한강성심병원 신경정신과에 입원한 환자를 대상으로 하였다. 알코올 의존의 진단은 문진과 이학적 검사의 임상적 판단에 따라 이루어졌다. 환자들은 미국 정신의학회에서 제시한 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder IV(DSM-IV)<sup>22)</sup>의 알코올 의존 장애 진단 기준에 합당하였다. 염증성 질환이 있는 경우, 빈혈 등 혈액소의 수준에 영향을 미치는 질환이 있는 경우, 다른 약물의 오남용이 있거나, 알코올과 직접 관련이 없는 정신적 또는 신체적 질환이 동반된 경우는 연구 대상에서 제외하였다.

### 2. %CDT의 측정

입원 당시와 입원 2주 후에 각각 %CDT를 측정하였다. 내원 당일 또는 입원 다음날 아침 공복 시 채혈한 혈액의 혈청 검체를 냉장 보관한 후 일주일에 한번씩 모아서 상온화된 시약인 Bio-Rad사의 %CDT 측정법(Axis-Shield ASA)으로 측정하였다. 검사 원리는 칼럼을 통한 분리 후 탁도를 측정하는 이중 면역 분석법(heterogenous immunoassay)으로서 검체 중의 혈청 트랜스페린을  $Fe^{3+}$ 로 포화시키고 이온 교환 컬럼을 통과시키면, sialo 기의 양에 따라 CDT에 해당하는 asialo-, monosialo-, disialo- 트랜스페린이 분리된다. 분리된 CDT 분획과 검체 중의 총 트랜스페린을 각각 항-트랜스페린 항체와 반응시켜 면역 복합체를 형성하게 한 후 450nm에서 탁도

를 측정했다. 결과는 측정 곡선을 이용하여 총 트랜스페린에 대한 CDT의 비율인 %CDT 값으로 계산하였다. %CDT의 정상 범위는 제조사에서 제시한 2.6% 이하를 기준으로 하였다. 24명의 환자는 다시 2주 후에 추적 검사가 이루어졌다. 이 환자들은 모두 입원 상태로서 입원 이후부터 금주가 이루어졌다.

### 3. NGF의 측정

NGF의 측정은 %CDT의 측정과 같은 시기인 입원 당시와 입원 2주 후에 각각 실시하였다. 연구 대상자들에게 12시간의 공복 기간을 갖게 한 뒤 오전 8~9시에 10mL의 혈액을 채취하였다. 검체들을 sodium heparin vacuum tube에 모았고, 즉시 3800rpm으로 10분 동안 원심분리하였다. 혈청은 -70°C에서 저장하였다. Human  $\beta$ -NGF는 DuoSet enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Development System (DY256, R & D Systems, UK)를 이용하여 분석하였다. 항원을 PBS에 4  $\mu$ g/ml의 농도가 되도록 희석한 후, 96 well ELISA plate에 100  $\mu$ l씩 각 well에 넣고 wrap으로 싸서 실온에서 overnight 동안 반응 시켰다. 각 well에 400  $\mu$ l의 washing buffer (0.05% Tween-20 in PBS)를 첨가하여 3회 반복 세척하고, blocking buffer (1% BSA, 5% Sucrose in PBS)를 각 well에 300  $\mu$ l씩 첨가하여 1시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 위와 같은 방법으로 세척하고, samples과 standards를 100  $\mu$ l씩 각각 첨가하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 같은 방법으로 세척하고 2차 항체를 diluent buffer (0.1% BSA, 0.05% Tween-20 in TBS)에 1:180 (v/v)로 희석하여 각 well에 100  $\mu$ l씩 첨가하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 다시 위와 동일한 방법으로 세척하고, streptavidin-conjugated horseradish-peroxidase를 diluent buffer에 1:200으로 희석하여 각 well에 100  $\mu$ l씩 첨가하여 20분간 실온에서 반응시켰다. 같은 방법으로 세척한 후, substrate solution (R & D systems)를 각 well에 100  $\mu$ l씩 넣고 20분간 상온에서 반응시키고, 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100  $\mu$ l로 발색 반응을 정지시킨 뒤, ELISA reader를 이용하여 450nm의 흡광도에서 반응의 강도를 측정하였다.

**Table 3.** Serum NGF level at the baseline and after 2 weeks of abstinence

	Baseline	2 weeks	Difference	p value
NGF (pg/mL)	126.34 ± 29.97	121.61 ± 30.33	4.73 ± 60.30	0.366

NGF : nerve growth factor, Difference : Baseline serum NGF level-Serum NGF level after 2 weeks of abstinence

### 4. 자료 분석

통계 분석은 SPSS 12.0 프로그램을 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 입원 직후와 입원 2주 후의 측정치 그리고 그 차이 값을 평균±표준편차로 요약하였으며, 입원 직후와 입원 2주 후의 값 차이의 유의성은 paired t-test로 분석하였다. %CDT와 혈청 NGF 농도의 관련성은 Pearson 상관 분석으로 평가하였다. 모든 통계 분석의 유의성 검증은 유의 수준 0.05 미만으로 하였다.

## 결 과

### 1. 인구학적 기초 정보

표 1에서 보는 바와 같이 연구 대상은 총 24명으로 남자 21명, 여자 3명이었고, 평균 연령은 46.8±10.8세(29~72세), 평균 키는 167.2±7.59cm(150~182cm), 평균 몸무게는 60.4±12.0kg(38.6~84kg), 처음 음주를 시작한 평균 연령은 22.1±5.4세(15~33세), 평균 음주량은 10.8±5.2잔(2.1~25.6잔) (1잔은 알코올 12g), 평균 음주 기간은 12.4±10.6년(1~31년)이었다.

### 2. %CDT 변화 양상

연구 대상 24명의 입원 당시와 2주 후의 %CDT 변화

**Table 1.** Demographic characteristics of subjects

	Mean	SD	Range
Age(year)	46.8	10.9	29- 72
Height(cm)	167.2	7.6	150-182
Weight(kg)	60.4	12.0	38.6- 84
Onset(year)	22.1	5.4	15- 33
Amount(unit)	10.8	5.2	2.1- 25.6
Duration(year)	12.4	10.6	1- 31

1 unit=12g of alcohol

**Table 2.** %CDT level at the baseline and after 2 weeks of abstinence

	Baseline	2 weeks	Difference	p value
%CDT	5.05 ± 2.83	3.58 ± 1.19	1.47 ± 4.02	0.002

%CDT : % carbohydrate-deficient transferrin, Difference : Baseline %CDT-%CDT after 2 weeks of abstinence

는 표 2에서 보는 바와 같다. 2주 동안 %CDT가 현저히 감소하는 양상을 나타내었다( $t=3.471, p=0.002$ ).

### 3. 혈청 NGF 수준의 변화 양상

연구 대상 24명의 입원 당시와 2주 후의 NGF 변화는 표 3에서 보는 바와 같다. 2주 동안 혈청 NGF 농도는 유의한 차이를 보이지 않았다( $t=0.922, p=0.366$ ).

### 4. %CDT와 NGF의 상관관계

연구 대상 24명에 대한 %CDT와 NGF의 Pearson 상

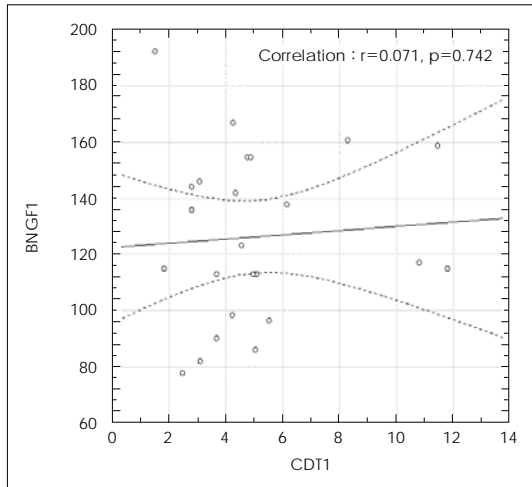


Fig. 1. Correlation between %CDT1 and NGF1. %CDT1 : baseline carbohydrate-deficient transferrin, NGF1 : baseline serum nerve growth factor level.

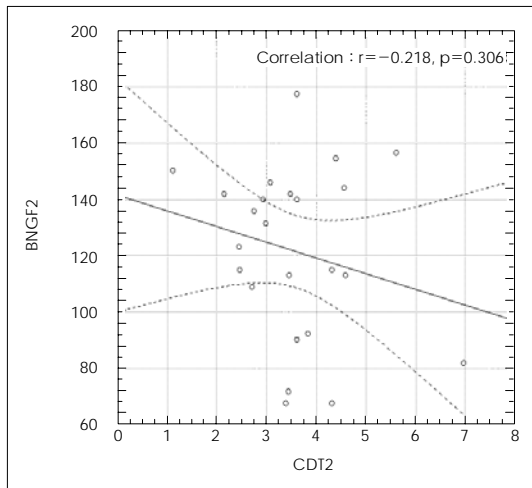


Fig. 2. Correlation between %CDT2 and NGF2. %CDT2 : %CDT after 2 weeks of abstinence, NGF2 : serum nerve growth factor level after 2 weeks of abstinence.

관분석 결과는 그림 1, 2와 같다. 입원 직후 및 2주 후에 측정된 %CDT와 NGF 사이에 통계적으로 유의한 상관관계는 볼 수 없었다(입원 직후  $r=0.071, p=0.742$ /입원 2주 후  $r=-0.218, p=0.306$ ).

## 고 찰

%CDT는 현재까지 만성적인 알코올 섭취에 있어 가장 신뢰할 수 있는 특이적 표지자로서 알려져 있다.<sup>21)</sup> 또한 %CDT는 알코올 섭취의 다른 생화학적 지표인 aspartate transferase(AST), alanine transferase(ALT), gamma-glutamyl transferase GGT), mean corpuscular volume(MCV)와 유의한 상관관계가 있다.<sup>23)</sup> 2주 이상 하루 알코올 섭취가 60g을 초과하는 경우에는 CDT가 증가하지만, 삽화성의 과도한 음주로는 증가하지 않는다.<sup>24)25)</sup> CDT가 증가된 상태는 그 증가 정도에 따라 달라지지만 알코올 섭취를 중단한 후 약 2~4주 동안 지속된다.<sup>20)</sup> %CDT는 다른 생화학적 표지자인 GGT나 MCV보다도 민감도가 높아<sup>26)27)</sup> 알코올 의존 환자의 제독 치료 후 추적 관찰에 특히 유용하다. 본 연구에서도 금주 시작 후 2주가 경과된 시점의 추적 검사에서 %CDT 수치가 유의하게 낮아졌으며, 연구 대상들의 평균값은 2주 추적 검사 후에도 정상치(2.6% 미만)로 회복되지 못하여 기존 연구들과 비슷한 결과를 보여 주었다.

알코올이 neurotrophin의 합성, 이용, 운반, 생화학적 활성을 감소시킨다는 것을 보여주는 주목할 만한 증거들이 있고, 알코올은 이러한 요인들에 반응하여 표적 뉴런의 수용력을 변화시킨다.<sup>28)</sup> Neurotrophin 중에서 NGF는 교감 및 감각 신경의 생존과 유지에 관여한다. 또한, 알코올 독성에 대한 방어적인 능력을 지니고 있어, NGF 농도의 감소는 신경 성장의 둔화, 신경 생존의 감소, 신경 재생산을 증진시키는 능력의 감소, 특정 신경군의 신경화학적 표현형의 변화 등과 관련된다.<sup>14)</sup> 만성적으로 알코올을 섭취하게 한 동물 모델 연구에서, 쥐의 해마와 시상하부에서의 NGF 활성이 뚜렷하게 감소된 결과가 있으며<sup>29)</sup> 장기간의 알코올 섭취가 뇌 NGF의 감소와 NGF로 조절되는 콜린성 효소들의 감소를 초래한다는 연구 결과가 있다.<sup>30)</sup> 따라서, 혈청 NGF 변화는 만성 알코올 유도성 신경독성에서 중요한 역할을 한다고 생각해 볼 수 있다. 본 연구에서 혈청 NGF 수치의 평균값은 한국 알코올 의존 환자를 대상으로 한 Yoon 등<sup>31)</sup>의 연구 결과와는 다른 것으로, 이

는 아마도 본 연구에서는 금주 직후 및 2주 후에 혈청 NGF 농도를 측정할 반면, Yoon 등<sup>31)</sup>은 단주 후 4주가 지난 알코올 의존 환자를 대상으로 혈청 NGF 농도를 측정할 것 때문이라고 판단된다. 결국, 입원 2주 후까지도 지속적인 알코올 유도 신경독성으로 인해 NGF 수치가 정상 평균치보다는 높았으나, 만약 금주 기간이 4주 이상으로 충분히 길어졌다면 NGF 수치가 정상치 이하로 감소할 수도 있었을 것으로 추측된다.

본 연구에서는 알코올 의존 환자에서 NGF와 %CDT의 상관관계를 규명하고, %CDT를 측정하여 알코올 유도 신경 독성의 정도를 예측할 수 있는지 알아 보고자 하였다. 혈청 %CDP는 2주간의 금단 기간 동안 유의한 감소를 보였으나 NGF 농도는 그렇지 않았다. 이들 간에 어떤 유의한 상관관계는 보이지 않았다. 이는 본 연구의 제한점인 24명의 작은 표본 수와 2주간의 짧은 관찰기간으로 인한 결과일 수도 있다. 하지만 %CDT 알코올 표지자로 쓰일 만큼 알코올 의존에 특이적으로 변하는 데에 반해 NGF는 다른 여러 질환들과도 관계되어 변하는 점, 각각이 신체내 철분 수송과 중추신경계 발달이라는 다른 기능을 갖는 점 등으로 보아 서로 알코올 의존과 관계되지만 전혀 다른 기전을 통해 조절되는 것으로 생각할 수 있다. 향후 혈청 NGF 농도와 %CDT가 알코올 의존 환자의 음주력 등 임상적 특성 및 다른 생물학적 표지자들과 갖는 상관관계를 밝힐 수 있는 장기적 추적 연구를 정상 대조군을 포함하여 시행할 필요가 있을 것으로 생각된다.

## 결론

%CDT는 알코올 의존의 신뢰할만한 생물학적 표지자로서 간주된다. 또한, 최근의 연구들에서, 알코올 의존 상태에 있는 동물 모델의 중추 신경계에서 NGF가 비정상적으로 조절된다고 보고되고 있다. 장기적인 알코올 섭취에 의한 NGF의 변화가 알코올 유도 신경 독성에서 중요한 역할을 할 수 있다. 이 연구의 목적은 첫째, 알코올 단주의 기간에 따른 %CDT와 혈장 NGF의 변화를 측정하는 것이고 둘째, %CDT 수치가 알코올 의존 환자에서 혈장 NGF 수치와 연관되는지 여부를 확인하는 것이다. 본 연구에서는 24명의 알코올 의존 환자를 대상으로 실험한 결과 %CDT는 2주간의 금주기간 이후에 입원 직후보다 감소된 수치를 보였으나 NGF는 그렇지 않았다. 입원직후나 2주 추적검사에서 모두 두가지 측정치 사이에 상관관

계를 보이지 않았다. 따라서 %CDT와는 달리 NGF는 알코올 의존의 표지자로 사용되기에 부적절하다고 생각되며, %CDT 또한 알코올로 인한 신경계 영향의 예측인자로 사용되기에 부적절하다고 생각된다. 또한 둘 사이의 상관관계의 부재로 볼 때 두 지표의 알코올로 인한 수치 변화와 관련된 기전도 다를 것으로 기대된다. 향후 알코올 의존에서 혈액학적, 신경학적 변화들에 관하여 두 표지자 사이의 관계를 평가하기 위해서는 보다 많은 표본과 긴 관찰 기간을 가지고 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다.

**중심 단어** : 알코올 의존 · 탄수화물결핍 트랜스페린 · 신경 성장인자 · 신경독성.

## 참고문헌

1. Hamre KM, West JR. The effects of the timing of ethanol exposure during the brain growth spurt on the number of cerebellar Purkinje and granule cell nuclear profiles. *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:610-622.
2. Nixon K, Crews FT. Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurochem* 2002;83:1087-1093.
3. Bohbot VD, Allen JJ, Nadel L. Memory deficits characterized by patterns of lesions to the hippocampus and parahippocampal cortex. *Ann N Y Acad Sci* 2000;911:355-368.
4. Casamenti F, Scali C, Vannucchi MG, Bartolini L, Pepeu G. Long-term ethanol consumption by rats: effect on acetylcholine release in vivo, choline acetyltransferase activity, and behavior. *Neuroscience* 1993;56:465-471.
5. Keyvani K, Schallert T. Plasticity-associated molecular and structural events in the injured brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002;61:831-840.
6. Chao MV. Trophic factors: An evolutionary cul-de-sac or door into higher neuronal function? *J Neurosci Res* 2000;59:353-355.
7. Moore DB, Madorsky I, Paiva M, Barrow Heaton M. Ethanol exposure alters neurotrophin receptor expression in the rat central nervous system: Effects of neonatal exposure. *J Neurobiol* 2004;60:114-126.
8. Connor B, Dragunow M. The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain. *Brain Res Brain Res Rev* 1998;27:1-39.
9. Hefti F, Dravid A, Hartikka J. Chronic intraventricular injections of nerve growth factor elevate hippocampal choline acetyltransferase activity in adult rats with partial septo-hippocampal lesions. *Brain Res* 1984;293:305-311.
10. Rylett RJ, Williams LR. Role of neurotrophins in cholinergic-neurone function in the adult and aged CNS. *Trends Neurosci* 1994;17:486-490.

11. Heaton MB, Paiva M, Swanson DJ, Walker DW. Modulation of ethanol neurotoxicity by nerve growth factor. *Brain Res* 1993;620:78-85.
12. Heaton MB, Paiva M, Swanson DJ, Walker DW. Ethanol neurotoxicity in vitro: effects of GM1 ganglioside and protein synthesis inhibition. *Brain Res* 1994;654:336-342.
13. Heaton MB, Mitchell JJ, Paiva M. Overexpression of NGF ameliorates ethanol neurotoxicity in the developing cerebellum. *J Neurobiol* 2000;45:95-104.
14. Seabold GK, Luo J, Miller MW. Effect of ethanol on neurotrophin-mediated cell survival and receptor expression in cultures of cortical neurons. *Brain Res Dev Brain Res* 1998;108:139-145.
15. Back JK, Heaton MB, Walker DW. Chronic alcohol ingestion: nerve growth factor gene expression and neurotrophic activity in rat hippocampus. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18:1368-1376.
16. MacLennan AJ, Lee N, Walker DW. Chronic ethanol administration decreases brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat hippocampus. *Neurosci Lett* 1995;197:105-108.
17. Wong KL, Regöczi E. Some observations on the carbohydrate composition of purified transferrin. *Int J Pept Protein Res* 1977;9:241-248.
18. Stibler H, Borg S. Carbohydrate composition of serum transferrin in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 1986;10:61-64.
19. Fleming M, Mundt M. Carbohydrate-deficient transferrin: validity of a new alcohol biomarker in a sample of patients with diabetes and hypertension. *J Am Board Fam Pract* 2004;17:247-255.
20. Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. *Clin Chem* 2001;47:13-27.
21. Anton RF, Dominick C, Bigelow M, Westby C. Comparison of Bio-Rad %CDT TIA and CDtect as laboratory markers of heavy alcohol use and their relationships with gamma-glutamyltransferase. *Clin Chem* 2001;47:1769-1775.
22. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. Washington DC:1994.
23. Gomez A, Conde A, Aguiar JA, Santana JM, Jorriñ A, Betancor P. Diagnostic usefulness of carbohydrate-deficient transferrin for detecting alcohol-related problems in hospitalized patients. *Alcohol Alcohol* 2001;36:266-270.
24. Anton RF, Moak DH, Latham P. Carbohydrate-deficient transferrin as an indicator of drinking status during a treatment outcome study. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:841-846.
25. Huseby NE, Nilssen O, Erfurth A, Wetterling T, Kanitz RD. Carbohydrate-deficient transferrin and alcohol dependency: variation in response to alcohol intake among different groups of patients. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:201-205.
26. Myrick H, Henderson S, Anton RF. Utility of a new assay for carbohydrate-deficient transferrin (Biorad %CDT TIA) to monitor abstinence during a treatment outcome study. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25:1330-1334.
27. Walter H, Hertling I, Benda N, König B, Ramskogler K, Riegler A, et al. Sensitivity and specificity of carbohydrate-deficient transferrin in drinking experiments and different patients. *Alcohol* 2001;25:189-194.
28. Walker DW, Heaton MB, Lee N, King MA, Hunter BE. Effect of chronic ethanol on the septohippocampal system: a role for neurotrophic factors? *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:12-18.
29. Miller R, King MA, Heaton MB, Walker DW. The effects of chronic ethanol consumption on neurotrophins and their receptors in the rat hippocampus and basal forebrain. *Brain Res* 2002;950:137-147.
30. Aloe L, Bracci-Laudiero L, Tirassa P. The effect of chronic ethanol intake on brain NGF level and on NGF-target tissues of adult mice. *Drug Alcohol Depend* 1993;31:159-167.
31. Yoon SJ, Roh S, Lee H, Lee JY, Lee BH, Kim YK, et al. Possible role of nerve growth factor in the pathogenesis of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30:1060-1065.