

S-Transferrin proteoformer

Bakgrund

Congenital Disorders of Glycosylation (CDG) är en heterogen grupp genetiska sjukdomar som påverkar glykosyleringen av proteiner och lipider [2,3]. Sjukdomarna namnges med den gen som är påverkad, följt av CDG, till exempel PMM2-CDG, MPI-CDG och ALG1-CDG. Sjukdomarna är ovanliga och det finns mer än 150 olika sjukdomar beskrivna (2021). CDG-sjukdomarna påverkar ofta flera olika organ och bland de vanligare symtomen ses neurologisk påverkan som till exempel intellektuell funktionsnedsättning och epilepsi. Dessutom ses ofta leverpåverkan, koagulopati, hjärtsjukdom, ögonpåverkan och hudpåverkan samt dysmorfa drag.

För att undersöka förekomst av CDG-sjukdomar som påverkar den N-linkade glykosyleringen av protein används transferrin som markör. Transferrin (TF) är ett glykoprotein och TF innehåller två N-bundna glykokonjugat, Fig 1. Proteiner destinerade att bli N-glykosylerade blir det när de har translaterats in i ER-lumen. Väl där förs ett prefabricerat glykokonjugat över från dolikolpyrofosfat till kvävet i asparagin (sekvensen Asn-X-Ser/Thr där X inte får vara Pro, krävs). Glykokonjugatet modifieras senare i ER och Golgi-apparaten av glykosidaser och glykosyltransferaser.

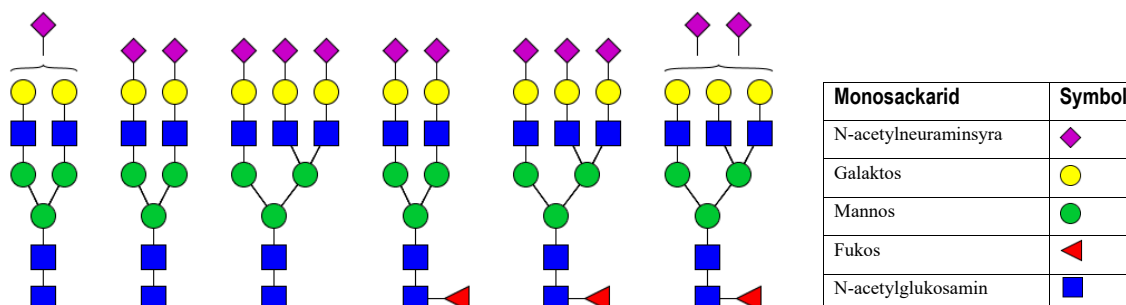


Fig. 1. De vanligaste förekommande glykokonjugaten på transferrin.

Olika CDG-typer som påverkar N-glykosyleringen får olika konsekvenser på glykosyleringen av TF. CDG-typer som påverkar syntesen av det prefabricerade glykokonjugatet (typ I) leder generellt till brist på hela glykokonjugat vilket i sin tur leder till en ökad andel av TF som helt saknar ett eller två glykokonjugat. CDG-typer som direkt eller indirekt påverkar senare steg i glykosyleringen (typ II) leder till trunkerade eller andra avvikande typer av glykokonjugat [2]. Både defekter som ger typ I och typ II-mönster i den N-linkade glykosyleringen kan påvisas med hjälp av högupplösande masspektrometrisk detektion av transferrin fraktioner [4,5].

Vissa former av svår leversjukdom, galaktosemi samt ärftlig fruktosintolerans kan ge förhöjda värden på kvoten monoglykosylerad TF/diglykosylerad TF [6,7]. Vid analys utförd på barn yngre än 6 veckors ålder kan resultatet bli såväl falskt patologiskt som falskt normalt för CDG. Vid positivt svar eller fortsatt misstanke om CDG trots negativt svar skall därför förnyad provtagning ske efter minst 1 mån, dock tidigast vid 3 månaders ålder [8]. Transferrinmönstret för vissa subtyper av CDG liknar det som ses vid hög alkoholkonsumtion. Kvoten monoglykosylerad TF/diglykosylerad TF kan vara väl så hög som hos CDG-patienter men den är oftast det inte i kombination med hög kvot för aglykosylerad TF/diglykosylerad TF [9,10]. Vid ålder över 15 tillsammans med positivt CDG typ I-svar bör PEth analyseras för att utesluta hög alkoholkonsumtion.

Svar/Tolkning/Bedömning

Svar anges som kvoten (%) mellan:

-monoglykosylerad TF/diglykosylerad TF

-aglykosylerad TF/diglykosylerad TF

-samt förekomst av trunkerade kolhydratkedjor

Typ I mönster föreligger om kvoten mellan monoglykosylerad TF/diglykosylerad TF är >10 % och kvoten aglykosylerad TF/diglykosylerad TF är >5 %. Analysen besvaras med medicinsk bedömning avseende förekomst av normalt mönster, typ I- eller typ II-mönster.

Metodik/mätprincip

Serum späds med PBS. Provet injiceras i analysystemet och TF anrikas via en polyklonal immunoaffinitetskolonn i ett HPLC-system. Den för TF anrikade fraktionen elueras från affinitetskolonnen med lågt pH och förs över till en analyskolonn, en kort C4-kolonn. Analyskolonnen separerar TF från salter samt eventuella ospecifika proteiner. Fraktionen innehållande TF leds in i masspektrometern för analys [11]. För CDG typ I studeras främst kvoten av monoglykosylerad TF/diglykosylerad TF och aglykosylerad TF/diglykosylerad TF. För CDG typ II ses trunkerade kolhydratkedjor.

Interferenser och felkällor

Utöver de felkällor beskrivna i avsnittet ”Bakgrund” ovan finns även följande kända interferenser och felkällor:

- Genetiska varianter av transferrin kan försvåra tolkningen av masspektret.
- Hög fukosylering ger ökning av specifika toppar [12].

Mätområde

2-100 %.

Detektionsgräns

Nedre detektionsgräns är inte relevant eftersom mätområdet utgörs av en kvot och den nedre detektionsgränsen är beroende av provets totala transferrinhalt.

Mätosäkerhet

Hämtat från Flexlab/QM, årsgenomgång för 2022

Nivå (%)	Imprecision (CV%)
7	10
16	6

Spårbarhet

Kalibrator saknas.

Övrig information

Vid beställning av S-CDT på barn <11 år avbeställs analysen och ersätts av S-Transferrin proteoformer.

Referenslitteratur

1. Bianchi V. Carbohydrate-deficient transferrin (CDT). A Biochemical Marker of Heavy Alcohol Consumption.
2. Lefeber DJ, Freeze HH, Steet R, and Kinoshita T. Chapter 45, Congenital disorders of glycosylation. Essentials of Glycobiology [Internet]. 4th edition.
3. Chang IJ, He M, and Lam CT. Congenital disorders of glycosylation. Ann Transl Med. 2018;6(24):477
4. Bruneel A, Cholet S, Tran NT, Mai TD, and Fenaille F. CDG biochemical screening: Where do we stand? BBA – General Subjects 2020;1864:129652
5. Bergen HR, Lacey JM, O'Brien JF, and Naylor S. Online single-step analysis of blood proteins: The transferrin story. Anal Biochem 2001;296:122-129
6. Helander A, Eriksson G, Stibler H, and Jeppsson JO. Interference of transferrin isoform types with carbohydrate-deficient transferrin quantification in the identification of alcohol abuse. Clin Chem [Internet]. 2001;47:1225–1233. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11427453>
7. Pronicka E, Adamowicz M, Kowalik A, Ploski R, Radomska B, Rogaszewska M, Rokicki D, and Sykut-Cegielska J. Elevated carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and its normalization on dietary treatment as a useful biochemical test for hereditary fructose intolerance and galactosemia. Pediatr Res 2007;62:101-105
8. Thiel C, Meßner-Schmitt D, Hoffmann GF, and Körner C. Screening for congenital disorders of glycosylation in the first weeks of life. J Inherit Metab Dis [Internet]. 2013 [cited 2014 Feb 10];36:887–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22991164>
9. Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and

- interpretation. Clin Chem [Internet]. 2001;47:13–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11148172>
10. Bjerre B, Borg S, Nord B, Helander A, Jeppsson J, and Mas U. CDT värdefull markör för överkonsumtion av alkohol Riktlinjer för dess användning vid körkortsprovning. Läkartidningen [Internet]. 2001;98:677–683. Available from <https://lakartidningen.se/wp-content/uploads/OldPdfFiles/2001/22422.pdf>
 11. Lacey JM, Bergen R, Magera MJ, et al: Rapid determination of transferrin isoforms by immunoaffinity liquid chromatography and electrospray mass spectrometry. Clin Chem 2001;47:513-518 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11238305/>
 12. Sturiale L, Barone R, Fiumara A, Perez M, Zaffanello M, Sorge G, Pavone L, Tortorelli S, O'Brien JF, Jaeken J, and Garazzo D. Hypoglycosylation with increased fucosylation and branching of serum transferrin N-glycans in untreated galactosemia. Glycoiology 2005;15(12):1268-1276
 13. Bengtson P, Ng B, Jaeken J, Matthijs G, Freeze HH, and Eklund EA. Serum transferrin carrying the xeno-tetrasaccharide NeuAc-Gal-GlcNAc2 is a biomarker of ALG1-CDG. J Inherit Metab Dis. 2016 Jan; 39(1): 107–114. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822552>