Datum:	Jméno: Skupina:

CVIČENÍ 4: Vybraná vyšetření u onemocnění jater I – enzymová stanovení

Úvod

Žádný z jaterních testů není specifický pro určitý typ poškození jater ⇒ používají se kombinace laboratorních vyšetření + doplnění dalšími diagnostickými metodami (US, CT, MRI)*.

Biochemické testy na vyšetření funkce jater a žlučových cest**:

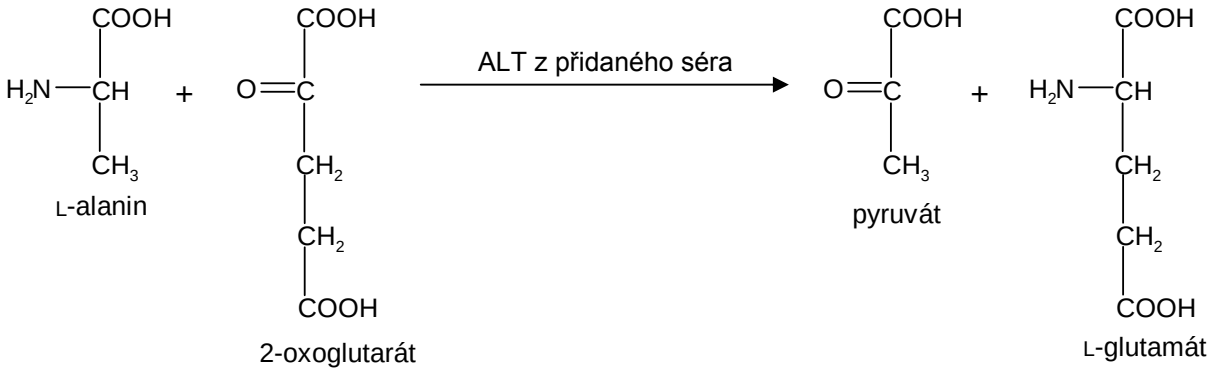
- ukazatele poškození hepatocytu (AST, ALT, GMD)
- ukazatele cholestázy (ALP, GMT)
- kapacita jater pro transport organických aniontů a odstraňování endogenních a exogenních látek z cirkulace (bilirubin, žlučové kyseliny)
- kapacita jater pro metabolizování cizorodých látek (aminopyrin, bromsulfoftalein)
- syntetická činnost jater (albumin, CHS, koagulační faktory)
- nespecifické testy zpřesňující diagnózu (sérologické testy na hepatitidy, hladiny imunoglobulinů, specifické protilátky)

Základní screening
- na odhalení jaterního onemocnění:
  - aminotransferázy (většinou stačí ALT)
  - ALP
- pro posouzení syntetické činnosti jater:
  - albumin
  - CHS
- pro zjištění změn v metabolismu bilirubinu
  - žlučová barviva v moči
  - sérový bilirubin

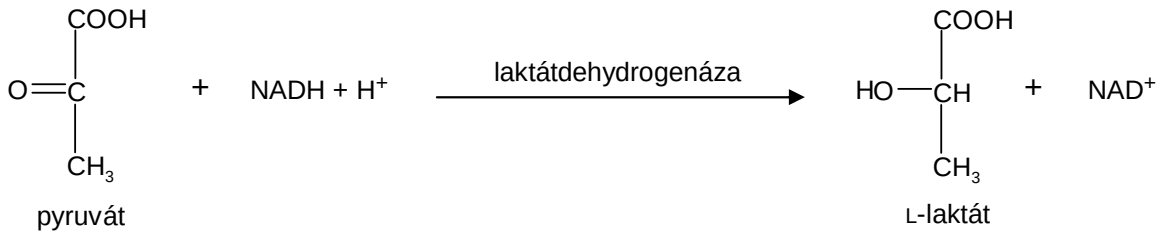
Při patologické změně některé hodnoty udělat rozšiřující vyšetření.

4.1 Stanovení katalytické koncentrace ALT v séru

Kinetická metoda (měření během prvních minut reakce).
Optický test (měří se rychlost úbytku NADH ~ rychlost poklesu absorbance při 340 nm).



* US = ultrasonografie, CT = výpočetní tomografie, MRI = zobrazování magnetickou rezonancí
** AST = aspartátaminotransferáza, ALT = alaninaminotransferáza, GMD = glutamátdehydrogenáza, ALP = alkalická fosfatáza, GMT = gama-glutamyltransferáza, CHS = cholinesteráza



Provedení (viz skripta)

Výpočet katalytické koncentrace ALT v krevním séru:

$$\text{katal. konc. ALT}\,(\mu\text{kat dm}^{-3}) = \frac{\Delta A_{340}}{\Delta t} * 29{,}10$$

ΔA_{340}....změna absorbance vzorku při 340 nm (bezrozměrné číslo)
Δt..... doba za kterou došlo ke změně absorbance o ΔA_{340} (min)
Odvození vztahu viz skripta. Vztah platí pro objem séra 0,1 ml a celkový objem reakční směsi (pracovní roztok + sérum) 1,1 ml.

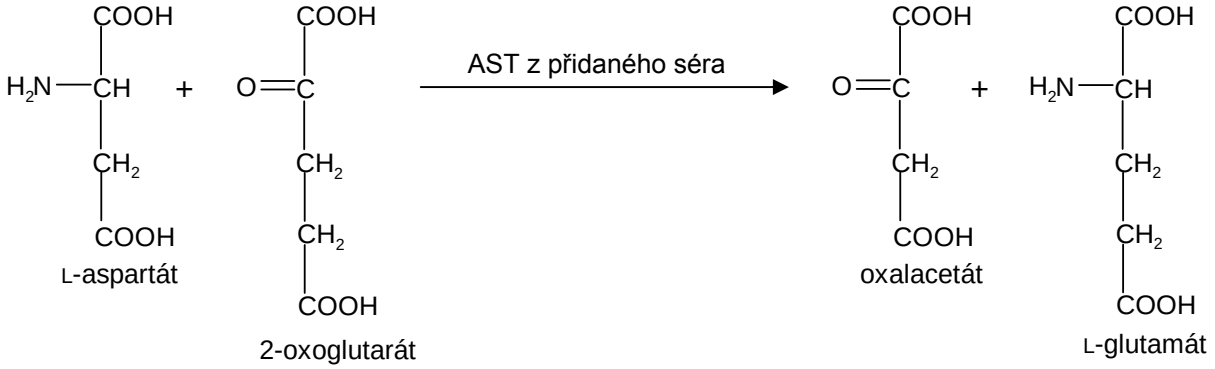
Výsledek:

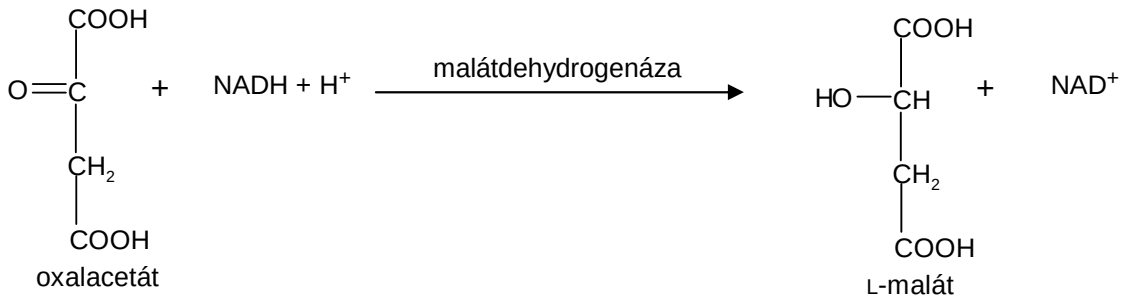
Hodnocení

Porovnání výsledku s referenčním intervalem katalytické koncentrace ALT 0,1 - 0,8 μkat l^{-1}. Největší aktivita ALT je v játrech ⇒ ↑ ALT v séru indikuje především porušení integrity cytoplazmatické membrány hepatocytů. (dopiš hodnocení a závěr)

4.2 Stanovení katalytické koncentrace AST v séru

Kinetická metoda (měření během prvních minut reakce).
Optický test (měří se rychlost úbytku NADH ~ rychlost poklesu absorbance při 340 nm).





Provedení (viz skripta)

Výpočet katalytické koncentrace AST v krevním séru dle stejného vztahu jako ALT v úloze 4.1.

Výsledek:

Hodnocení

Porovnání výsledku s referenčním intervalem katalytické koncentrace AST 0,05 - 0,72 μkat l^{-1}. ↑ AST v séru indikuje porušení integrity cytoplazmatických membrán ve tkáních s vysokou aktivitou AST, nejčastěji v myokardu a jaterním parenchymu. (dopiš hodnocení a závěr)

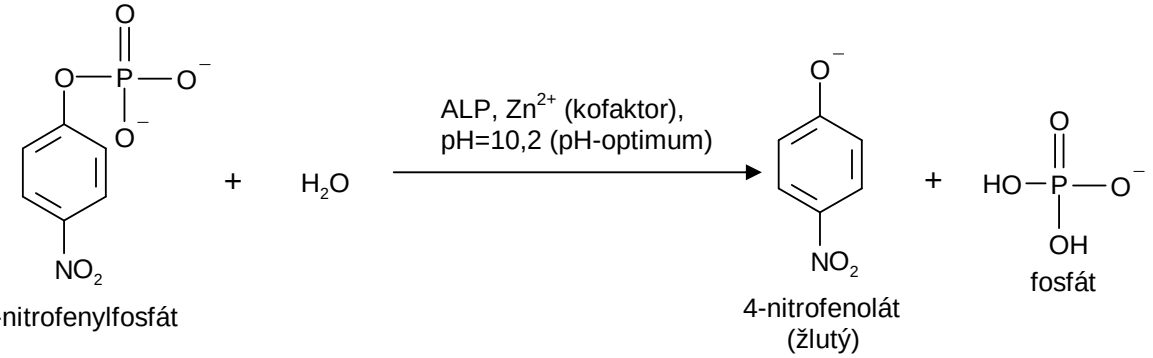
Ke studiu: význam stanovení AST a ALT v diagnostice hepatobiliárního poškození
Aminotransferázy - citlivý ale nespecifický ukazatel většiny jaterních onemocnění, **N ALT a AST** vylučuje s největší pravděpodobností hepatobil. onemocnění.
>20×↑ ALT, AST - akutní virová hepatitida, akut. toxické poškoz. jater, stavy spojené s jaterní hypoperfuzí resp. hypoxií a městnáním (šok, akutní pravostranné srdeční selhání)
několikanás. ↑ ALT, AST - u řady dalších jaterních chorob

AST - 30 % v cytoplazmě, 70 % v mitochondriích
↑ **AST** - porušení integrity cytoplazmatických membrán ve tkáních s vysokou aktivitou AST (myokard, jaterní parenchym)
AST/ALT<1 - záněty jater (převažují cytoplazmatické enzymy)
AST/ALT>1 - nekróza jaterních buněk, progrese do jaterní cirhózy (↑ mitochondriální frakce AST), pozn. také u akutního infarktu myokardu (AIM)
AST/ALT>2 - specifický test alkoholických jaterních dorob

4.3 Stanovení katalytické koncentrace ALP v séru

ALP je membránově vázaná, 3 hlavní izoenzymy: placentární, střevní, tkáňově nespecifická ALP (zahrnující izoformy jaterní, kostní a ledvinnou). Jsou i tzv. onkogenní izoenzymy produkované nádorovými buňkami. Stanovení aktivity v séru se využívá hlavně k posouzení kostních a hepatobiliárních onemocnění.

Metoda konstantního času (reakce se po 10 min zastaví inhibitorem).



Provedení (viz skripta)

Výpočet katalytické koncentrace ALP v krevním séru:

$$\text{katal. konc. ALP}\,(\mu\text{kat dm}^{-3}) = \frac{A_x - A_0}{A_{STD}} * 4$$

A_x.....absorbance vzorku při 420 nm (bezrozměrné číslo)
A_0.....absorbance porovnávacího roztoku pro vzorek při 420 nm (bezrozměrné číslo)
A_{STD}..... absorbance standardu při 420 nm měřená proti porovnávacímu roztoku pro standard (bezrozměrné číslo)
Odvození vztahu viz skripta.

Výsledek:

Hodnocení

Porovnání výsledku s referenčním intervalem katalytické koncentrace ALP
0,66 - 2,2 μkat l^{-1} (dospělí), do 8 μkat l^{-1} (děti). Dáno zejména jaterními, střevními a kostními izoenzymy. (dopiš hodnocení a závěr)

Ke studiu: význam stanovení ALP v diagnostice hepatobiliárního poškození
ALP - podstatná část jaterní ALP je v buněčných membránách buněk výstelky žlučových cest
≥2×↑ ALP (s převahou jaterního izoenzymu) - cholestáza, obstrukční ikterus, vzácněji infekční mononukleóza (↑ ALP mechanickými vlivy, detergenčním úč. žlučových kys., také ↑ jaterní syntézy ALP)
mírné ↑ ALP - řada jaterních onemocnění bez výraznější cholestatické složky
↑ ALP (s převahou střevního izoenzymu) - někt. nemocní s jaterní cirhózou (↓ vychytávání izoen. v játrech)
ALP vždy posuzovat spolu s ostatními ukazateli obstrukce, zejména GMT.

Ke studiu: další enzymové ukazatele poškození hepatocytu a cholestázy

Laktátdehydrogenáza (LD) a její LD_5 (M_4) izoenzym. LD - všudypřítomná, cytoplazmatická, 4 podjednotky dvou typů (H a M) ⇒ 5 izoenzymů. Ref. interval LD: 3,5 - 7,7 μkat l^{-1} z toho LD_5 6 - 16 %.
↑↑ **LD** - časná stádia akutní virové hepatitidy, stavy spojené s jaterní hypoperfuzí, resp. hypoxií
↑ **LD_5** - onemocnění jater, kosterního svalstva, některá nádorová onemocnění
↑ **LD_3** - může být u infekční mononukleózy

Gama-glutamyltransferáza (GMT). GMT - všudypřítomná, nejvíce v játrech, ledvinách pankreatu a ve střevě. V játrech: 1) v mikrosomální frakci hepatocytů, 2) v buněčných membránách buněk výstelky žlučových cest. Ref. interval GMT u dospělých: do 0,84 μkat l^{-1}. Citlivý nepříliš specifický marker jaterního onemocnění.
>10×↑ GMT - cholestáza, primární i metastatické nádory jater
<10×↑ GMT - ostatní onemocnění jater bez cholestázy
izolované ↑ GMT - alkoholici bez známek jaterního poškození (enzymová indukce mikrosomální GMT), podobný efekt má fenobarbital a jiné enzymové induktory
↑ **GMT** - může být u akutní pankreatitidy

Glutamátdehydrogenáza (GMD). GMD - typický mitochondriální enzym.
↑↑ **GMD** - nekrotizující formy hepatopatií (těžké toxické poškození, hepatodystrofie)
↑ **GMD** - také ↑ syntézy enzymu např. drážděním endotelu žlučových cest cholestázou (tumor, zánět)

5-Nukleotidáza (NTS). NTS - je přítomná ve střevě, mozku, srdci, cévách, pankreatu a játrech.
↑ **NTS** - především jaterní poškození (vysoká specifita pro jaterní onemocnění), NTS koreluje s aktivitou ALP a GMT, význam v diagnostice u dětí, kdy je ALP fyziologicky ↑

Problémy související s tímto tématem

4 1. U pacienta R. s podezřením na cholestázu byly mimo jiné vyšetřeny tyto jaterní enzymy: ALP, ALT, AST, GMT. U ALP byla zjištěna katalytická koncentrace 8,5 μkat l^{-1}, hodnoty ALT a AST jsou jen lehce zvýšené. Je možné uvažovat o cholestáze? Jaké hodnoty (↑ zvýšené, N normální či ↓ snížené) lze očekávat u GMT?

•

•

4 2. Pan K. byl hospitalizován s akutní virovou hepatitidou. Při biochemickém vyšetření enzymů byly nalezeny tyto hodnoty: ALT 36 μkat l^{-1}, AST 17,4 μkat l^{-1}. Vyhodnoťte poměr AST/ALT a vysvětlete jeho hodnotu. Dále se zamyslete, zda při tomto typu jaterního onemocnění je zcela nezbytné vyšetření na GMT a CHS.

•

•

•

4 3. Při kontrole u chlapce F. (12 let) byla nalezena v séru zvýšená hodnota ALP, hodnoty ALT, AST a GMT jsou ve fyziologických mezích. Pokuste se naznačit možnou příčinu.

•