



Biochemické vyšetrenie funkcie pečene

Jana Strigáčová

Pečeň

- Z metabolického hľadiska je najbohatším orgánom ľudského tela
- Prebieha tu **metabolizmus** sacharidov, lipidov, lipoproteínov, syntéza bielkovín
- Úloha vo vychytávaní, **detoxikácii** a vylučovaní xenobiotík (liekov, karcinogénov...) – sú vylučované do primárnych žľčovodov a prostredníctvom žlče odtraňované z tela
- syntéza hému, žľčových kyselín, metabolizmus vitamínov, kovov
- Pečeň má veľkú kapacitnú rezervu, preto sa ľahké poškodenie pečene vôbec neprejavuje klinicky
- Pacient s ťažkým poškodením má jasné klinické príznaky – svrbenie celého tela, žltáčka, petechie až príznaky krvácania, neobvyklé zmeny hmotnosti...

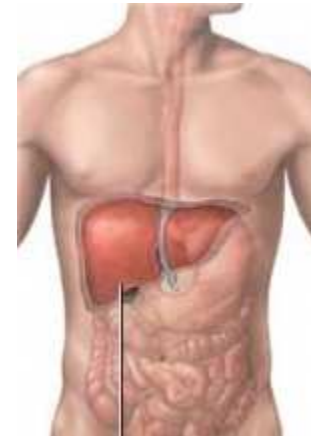
Hepatálne testy

- Testy odrážajúce poškodenie hepatocytov (**ALT, AST**)
- Testy odrážajúce poruchy na úrovni žlčovodov (**ALP, GGT**)
- Testy merajúce syntetickú činnosť pečene (**albumín, prealbumín, CHE, protrombínový komplex/faktory**)
- Testy merajúce kapacitu pečene transportovať organické anióny a odstraňovať endogénne a exogénne látky z obehu (**bilirubín, žlčové kyseliny**)
- Testy merajúce schopnosť a kapacitu pečene metabolizovať endogénne a xenogénne látky (**amoniak...**)
- Nešpecifické testy umožňujúce presnú diagnózu pri špecifických pečňových ochoreniach (**sérologické testy na hepatitídy, hladiny Ig, špecifické protilátky...**)

- V klinickom laboratóriu sa využíva rutínne panel vyšetrení, ktorý sa niekedy nazýva aj „funkčné pečeňové testy“

Patria medzi ne:

- bilirubín
- Aminotrasnferázy (ALT, AST)
- alkalická fosfatáza
- GGT
- dôkaz bilirubínu a urobilinogénu v moči



Bilirubín



- Vzniká z hemu **hemoglobínu**, myoglobínu, cytochrómov, kataláz
- Proces začína v slezine (vzniká zelený biliverdin, žltý až červený **NEKONJUGOVANÝ bilirubin**), nBil je albumínom transportovaný do pečene. V hepatocytoch je cytosolom prenesený do mikrozómov, kde prebehne tvorba esterov bilirubínu = **KONJUGÁCIA** (konjugovaný Bil je rozpustný vo vode)
- **NEKONJUGOVANÝ BILIRUBÍN** – nerozpustný vo vode, viazaný na albumín. Pri stanovení reaguje s činidlom až po uvoľnení väzby, teda nepriamo = **NEPRIAMY BILIRUBÍN**
- **KONJUGOVANÝ BILIRUBÍN** – rozpustný vo vode, esterifikovaný kyselinou glukurónovou, pri stanovení reaguje s činidlom priamo = **PRIAMY BILIRUBÍN**. V krvi sa vyskytuje v stopových množstvách, pri zvýšenej koncentrácii v plazme voľne preniká do moču

- Bilirubín spolu s kys. močovou majú antioxidačné účinky (štúdie – pacienti s hyperbilirubinémiou majú nižší výskyt aterosklerózy)

Hyperbilirubinémie

- Prejavujú sa žltým sfarbením kože a slizníc, vzniká **ikterus** (žltáčka)
- Typy ikteru
- 1) **Prehepatálny** - ↑ rozpad Ery – hemolytický ikterus
 - ↑nBil, norm kBil, neg U-Bil, + U-Ubg, norm ALT, norm ALP
 - Liečba transfúziou (hemolytická), novorodenci ožarovaním UV
- 2) **Hepatálny** (parenchymatózny) (zmiešaný) – poškodenie hepatocytov
 - ↑nBil, ↑kBil, + U-Bil, + U-Ubg, ↑ALT, norm ALP
 - Výskyt – hepatitída A, B, C

- 3) **posthepatálny** (obštrukčný) – príčinou je uzáver (obštrukcia) žlčových ciest – kameňom, nádorom
- norm nBil, ↑kBil, + U-Bil, negat U-Ubg, norm ALT, ↑ALP

Stanovenie bilirubínu

- V súčasnosti sa využívajú najmä kopulačné metódy
- Metóda podľa Jendrassika – Grofa
- Stanovenie s dichlóranilínom

Analytické ťažkosti

- Nestálosť bilirubínu na svetle – vzorky, kontroly, kalibrátory nevystavujeme priamemu slnečnému svetlu
- Zložitá príprava vhodného kalibrátora

ALT



- **Alanínaminotransferáza (ALT, EC 2.6.1.2)**
- **prenáša aminoskupinu:**
L-alanín + 2-oxoglutarát $\xrightarrow{\text{ALT, P-5'-P}}$ pyruvát + L-glutamát
(P-5'-P = pyridoxal-5'-fosfát)
- Polčas premeny je 37-57 hodín
- cytosolový enzým, v najvyššej koncentrácii v pečeni
- **ref. hodnoty:** muži 0,05 – 0,75, ženy 0,05 – 0,57 ukat/l
- **Zvýšené hodnoty:** vírusové hepatitídy, toxické hepatitídy (lieky, alkohol), mononukleóza, karcinóm pečene, žlčové kamene, cirhóza pečene (alkohol, vírusy, cholestáza, dedičné poruchy metabolizmu)

ALT

- **Princíp stanovenia:**

L-alanín + 2-oxoglutarát \rightarrow ALT, P-5'-P \rightarrow pyruvát + L-glutamát

(P-5'-P = pyridoxal-5'-fosfát)

Pyruvát + NADH \rightarrow LD \rightarrow L-laktát + NAD⁺

Reakcia je monitorovaná meraním rýchlosti poklesu absorbancie pri vlnovej dĺžke 340 nm, spôsobeného oxidáciou NADH na NAD⁺.

AST

- **Aspartátaminotransferáza** (AST, EC 2.6.1.1)
- Prenáša aminoskupinu:
L-aspartát + 2-oxoglutarát $\xrightarrow{\text{AST, P-5'-P}}$ oxalacetát + L-glutamát
(P-5'-P = pyridoxal-5'-fosfát)
- Polčas premeny je 12-22 hodín
- **výskyt:** hlavne v myokarde, kostrovom svalstve, pečeni, erytrocytoch (interferuje hemolýza!)
- Nachádza sa v 2 formách – cytosolový izoenzým a mitochondriový izoenzým
- mitochondriálna AST prechádza do krvi až pri nekróze hepatocytov \rightarrow pomer AST/ALT má význam pri určení vážnosti poruchy hepatocytov
- **ref. hodnoty:** muži 0,05 – 0,63, ženy 0,05 – 0,53 ukat/l

AST

- **Zvýšené hodnoty:** upchatie žlčových ciest – žlčové kamene, choroby pečene, infarkt myokardu, infekčná mononukleóza, myokarditída, nádory pečene, pankreatitída, popáleniny, zlyhávanie srdca, po resuscitáciách, úrazy a poškodenie kostrového svalstva.

- **Princíp stanovenia:**

$L\text{-spartát} + 2\text{-oxoglutarát} \xrightarrow{\text{AST, P-5'-P}} \text{oxalacetát} + L\text{-glutamát}$
(P-5'-P = pyridoxal-5'-fosfát)

$\text{oxalacetát} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} L\text{-malát} + \text{NAD}^+$

MDH = malátdehydrogenáza

Reakcia je monitorovaná meraním rýchlosti poklesu absorbancie pri vlnovej dĺžke 340 nm, spôsobeného oxidáciou NADH na NAD⁺.

ALP



- **Alkalická fosfatáza (ALP, EC 3.1.3.1)**
- Predstavuje skupinu enzýmov s nízkou substrátovou špecifickosťou, kt. katalyzuje hydrolýzu monoesterov kyseliny fosforečnej pri alkalickom pH
- Polčas premeny je 3-7 dní
- Presná funkcia nie je jasná
- Klinicky rozlišujeme [izoenzýmy ALP](#):
 1. **Placentárny**
 2. **Črevný**
 3. **Tkanivovo špecifický** (kostný, pečeoňový, obličkový)

Obličkový izoenzým sa v krvi nevyskytuje. Pečeňový a kostný izoenzým sú štruktúrne veľmi podobné – ich stanovenie je ale dôležité na rozlíšenie orgánového pôvodu zvýšenej ALP.

ALP

- **Zvýšené hodnoty:** choroby pečene a žlčových ciest (cholestáza, metastázy do pečene), ochorenia kostry (rachitída, nádory kostí, Pagetova choroba),
- **Fyziologické zvýšenie aktivity:** deti (osteoblastická aktivita), 3.trimester gravidity (tvorba placentárneho izoenzýmu)
- **Znížené hodnoty:** hypofosfatazémia (dedičné ochorenie)

Referenčné hodnoty:	muži	ženy	ukat/l
30D	1,25-5,27	0,80-6,77	
6R	1,55-5,77	1,82-5,30	
12R	1,23-5,63	0,83-3,65	
15R	1,23-6,50	0,83-2,70	
30R	0,50-2,15	0,50-1,65	
60R	0,50-2,15	0,50-1,65	

GGT

- **Gama-glutamyltransferáza (GGT, EC 2.3.2.2)**
- Katalyzuje prenos gama-glutamylového zvyšku na vhodný receptor
- **Výskyt:** obličky, pankreas, pečeň – aktivita v sére pochádza len z pečene
- Typický induktívny enzým – jeho tvorba sa zvyšuje vplyvom alkoholu, niektorých liekov, iných toxínov
- Polčas premeny je 3-4 dni
- **Ref. hodnoty:** muži 0,18-0,92, ženy 0,12-0,63 ukat/l
- **Zvýšené hodnoty:** poškodenie hepatocytov, obštrukcia žlčových ciest (5-30x vyššia), cirhóza pečene, steatóza (stukovatenie) pečene, nádory pečene

GGT



- **Stanovenie:**

GGT katalyzuje prenos gama-glutamínovej skupiny z donóru (L-gama-glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilid) na akceptor (glycylglycin) za vzniku 3-karboxy-4-nitroanilinu.

Rýchlosť nárastu absorbancie pri 412 nm je priamo úmerná množstvu GGT vo vzorke.

Záver



- Pri voľbe jednotlivých vyšetrení by sme mali postupovať racionálne a voliť len vyšetrenia smerujúce k diagnóze. Taký postup je šetrný pre pacienta a ekonomicky výhodný.