

RELEVANTNE LABORATORIJSKE ANALIZE KOJE SE KORISTE U ISPITIVANJU HEPATOBIILIЈARNOG SISTEMA

Dragan Delić

Institut za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije, Beograd

Sažetak

Različita oboljenja jetre dovode do značajnog disbalansa jetrinih funkcija, pa sve do hepatocelularne insuficijencije sa ireverzibilnim poremećajem homeostaze. Sva ta oboljenja prate i promene nivoa enzima koji su citozalnog ili mitohondrijalnog porekla, ili su vezani za membranu hepatocita. Kliničko-hemijski testovi koji služe za ispitivanje funkcija jetre, prema patomehanizmima, mogu grubo da se klasifikuju u testove:

a) kojima se identifikuje poremećaj permeabilnosti parenhimskih ćelija, b) koji ukazuju na nekrozu ćelija jetre, c) koji ukazuju na insuficijenciju mehanizama koji produkuju preoteine u endoplazmatičnom retikulumu parenhimskih ćelija, d) koji ukazuju na opstrukciju intra i ekstrahepatičkih žučnih puteva, i e) koji ukazuju na proliferaciju mezenhimalnih funkcija u jetri. Sve te testove treba odabrati tako, da obuhvate što više različitih funkcija jetre, zatim, treba ih ponavljati kako bi se mogao dinamički pratiti tok oboljenja i, najzad, treba ih procenjivati uvek u korelaciji sa celokupnom kliničkom slikom.

Zbog velike specifičnosti za jetru i izvanredne osetljivosti, kao i zbog pristupačnosti i ekonomske opravdanosti, predlaže se određivanje sledećih enzima kao skrining test za otkrivanje različitih oboljenja jetre: alanin-aminotransferaze (ALT), gama-glutamil-transpeptidaze (gama-GT) i holinestaraze (ChE). Ta tri enzima ukazuju na različit tip oštećenja jetre: ALT u serumu ukazuje na oštećenje i izmenu permeabiliteta membrane hepatocita; povećanje gama - GT ukazuje naolestazu ili druga, uglavnom toksična oštećenja jetre i, smanjenje ChE na izmenjenu sintezu proteina i/ili smanjenu masu ćelija jetre. Aktivnost tih enzima je u granicama referentnih vrednosti u manje od 2% bolesnika sa dokazanim oboljenjem jetre.

Prof. dr Dragan Delić

Institut za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije, Beograd

Bulevar oslobođenja 16, Beograd

E-mail: delic_co@neobee.net

Povišeni nivoi imunoglobulina, uz nalaz cirkulišućih antitela (antinuklearna, antimitohondrijalna i dr.), imaju veliki značaj u dijagnostici hroničnog autoimunog hepatitisa i primarne bilijarne ciroze jetre.

Egzaktna dijagnostika akutnih i hroničnih virusnih hepatitisa vezana je za direktne i indirektne virusološke testove. U svakodnevnoj lekarskoj praksi najčešće se koriste komercijalni testovi za dokazivanje virusnih antigena i antitela IgG i IgM klase ELISA metodom.

Ključne reči: hepatobilijarni sistem, laboratorijska dijagnostika, preporuke

Uvod

Dobro uzeta anamneza i minuciozan fizički pregled i dalje ostaju osnova dijagnostike svih oboljenja u humanoj medicini, pa i kada je reč o oboljenjima jetre i žučnih puteva. Međutim, poslednjih decenija, sa razvojem medicinske tehnologije, mnogobrojna laboratorijska, virusološka, imunološka, histološka, radiološka, endoskopska i druga ispitivanja preuzimaju dominantnu ulogu u postavljanja egzaktno dijagnoze oboljenja hepatobilijarnog trakta. Naravno, svi ti dijagnostički postupci, koji su često komplementarni, imaju svoje mesto i medicinski značaj, pa i ekonomsku opravdanost, samo ako njima prethodi kvalitetno uzeta anamneza i detaljan fizički pregled. Sva ta ispitivanja imaju za cilj:

- postavljanje egzaktno dijagnoze oboljenja (klinički entitet),
- jasno definisanje težine oboljenja,
- predviđanje evolucije bolesti i
- donošenje odluke o neophodnosti terapije.

Biohemijska dijagnostika u oboljenjima jetre (funkcionalno ispitivanje jetre)

Funkcionalno ispitivanje jetre se uglavnom zasniva na ispitivanju mnogobrojnih biohemijskih poremećaja koji prate oboljenja jetre i žučnih puteva. Pri tome, polazi se od činjenice da jetra ima ključnu ulogu u brojnim intermedijarnim metaboličkim procesima, kao što su, npr. sinteza ugljenih hidrata, lipida i brojnih proteina. Pored toga, jetra prihvata i skladišti materije koje se apsorbuju iz digestivnog trakta, ali i vrši detoksikaciju (biotransformaciju) tih materija preko metaboličke konverzije. U jetri se formira žuč kojom se izlučuju brojna jedinjenja u digestivni trakt, a sinteza žučnih kiselina u njoj omogućuje apsorpciju masti u tankom crevu. Bitna je uloga jetre i u održavanju acido-bazne ravnoteže, kao i u imunskom sistemu (2/3 retikuloendotelno sistema nalazi se u jetri u vidu *Kupfferovih* ćelija). Sve u svemu,

jetra, naš najveći visceralni organ sa oko 1,200 gr hepatocita, ima preko 500 različitih funkcija [1].

Kod različitih oboljenja jetre dolazi do manje - više značajnog disbalansa funkcija jetre, pa sve do hepatocelularne insuficijencije sa ireverzibilnim poremećajem hemostaze i smrtnim ishodom. Sva ta oboljenja prate i promene nivoa enzima koji su citozalnog ili mitohondrijalnog porekla, ili su vezani za membranu hepatocita (*Tab.1*).

Tabela 1. Raspodela enzima i funkcije najznačajnijih struktura u hepatocitima

STRUKTURA	FUNKCIJA	ENZIM
Žučni kanalići	Izlučivanje žuči, itd.	AF, LAP, gama-GT
Lizozomi	Intracelularna digestija i ekskrecija	Hidrolaze
Endoplazmatski retikulum -glatki -granulirani	Acetalizacija,metilacija, demetilacija, redukcija i oksidacija, konjugacija, Sinteza proteina	Detoksikujući enzimi, glukoronil-transferaza,itd. glukoronil-transferaza,itd. faktori koagulacije,itd.
Mitohondrije	Stvaranje energije	GLDH, m-AST
Citoplazma	Intracelularni metablozam	LDH, ALT, AST

Zbog svega toga, biohemijske analize imaju nesumnjivi značaj u dijagnostici oboljenja jetre. Te analize (testove) treba odabrati tako da obuhvate što više različitih funkcija jetre, zatim, treba ih ponavljati kako bi se mogao dinamički pratiti tok oboljenja i, najzad, treba ih procenjivati uvek u korelaciji sa celokupnom kliničkom slikom, imajući u vidu i mogućnost laboratorijske greške.

Danas, postoji više od 200 različitih kliničko-hemijskih metoda koji služe za dijagnostikovanje oboljenja jetre i žučnih puteva. Neki od njih, na primer, testovi zamućenja, odbačeni su kao nespecifični i zastareli. Međutim, i dalje postoji previše metoda, tako da je selekcija neophodna, između ostalog, i iz finansijskih razloga.

U principu, povećan nivo jednog ili više jetrenih enzima u serumu ukazuje na moguće hepatobilijarno oštećenje. Asimptomatski bolesnici sa minimalnim (<3 puta) povećanjem nivoa enzima, zahtevaju kontinuirano praćenje najmanje 6 meseci, kada se u slučaju održavanja te aktivnosti, postavlja sumnja u hronične bolesti jetre. Egzaktna dijagnoza hronične bolesti jetre postavlja se, i histopatološkim pregledom bioptata jetre [2].

Premda povećanje nivoa enzima jetre predstavlja osetljiv marker oštećenja jetre, ipak je tu reč o statičkoj biohemijskoj karakteristici, koja ne mora uvek korelirati sa biosintetskom funkcijom jetre. Zbog toga, termin funkcioni testovi jetre i nije potpuno prikladan za ta ispitivanja. S druge strane, ti enzimi nisu uvek specifični samo za jetru, tako da ne treba zanemariti mogućnost da je reč o nekom ekstrahepatičkom oboljenju [3].

Kliničko-hemijski testovi koji služe za ispitivanje funkcije jetre, prema patomehanizmima, mogu grubo da se klasifikuju u testove:

1. **kojima se identifikuje poremećaj permeabilnosti parenhimskih ćelija jetre:** povećanje aktivnosti aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-alanintransferaze (ALT), fruktozo-1-fosfor aldolaze, sorbitol dehidrogenaze i ornitin-karbamoil transferaze u plazmi;
2. **koji ukazuju na nekrozu ćelija jetre:** porast glutamat dehidrogenaze (GLDH) i mitohondrijalne AST u plazmi;
3. **koji ukazuju na insuficijenciju mehanizma koji produkuju proteine u endoplazmatičnom retikulumu parenhimskih ćelija:** smanjenje holinesteraze, albumina, pojedinih faktora koagulacije i fibrinogena u plazmi;
4. **koji ukazuju na opstrukciju intrahepatičkih i ekstrahepatičkih žučnih puteva:** povećanje serumskog bilirubina, alkalne fosfataze (AF), gama-glutamil-transpeptidaze (gama-GT), leucin aminopeptidaze (LAP) i izvesnih žučnih kiselina u plazmi;
5. **koji ukazuju na proliferaciju mezenhimalnih funkcija u jetri:** povećanje α -2 i gamaglobulina u elektroforezi proteina plazme i patološki rezultati labilitetnih testova i
6. **kompleksne funkcionalne testove kod kojih su različiti patogeni faktori odgovorni za patološke rezultati:** određivanje bilirubina, eliminacija bromsulfoftaleina i brzina eliminacije galaktoze.

Testovi integriteta hepatocita

U zavisnosti od stepena poremećaja ćelijskog integriteta, koji se kreće od povećanog permeabiliteta ćelijske membrane do ćelijske nekroze, rastvorljivi sastojci ćelija, u različitim koncentracijama, dospevaju u krvnu plazmu. Pri tome, najveći značaj ima određivanje oslobođenih enzima; kod lakših lezija hepatocita oslobodiće se pretežno enzimi rastvoreni u citoplazmi (tzv. membranski enzimi), a kod težih oštećenja i enzimi iz subćelijskih struktura, npr. mitohondrija [4].

Aminotransferaze (transaminaze)

Najčešće se koristi određivanje aktivnosti AST (ranije SGOT) i ALT (ranije SGPT). Aminotransferaze katalizuju prenošenje amino-grupe (NH₂) sa jedne amino-kiseline na neku ketonsku kiselinu. U slučaju nekroze hepatocita, aminotransferaze prelaze u krv i zato se mogu smatrati vrlo osetljivim indeksom nekroze jetrinih ćelija, odnosno specifičnim parametrom hepatocelularnog oštećenja.

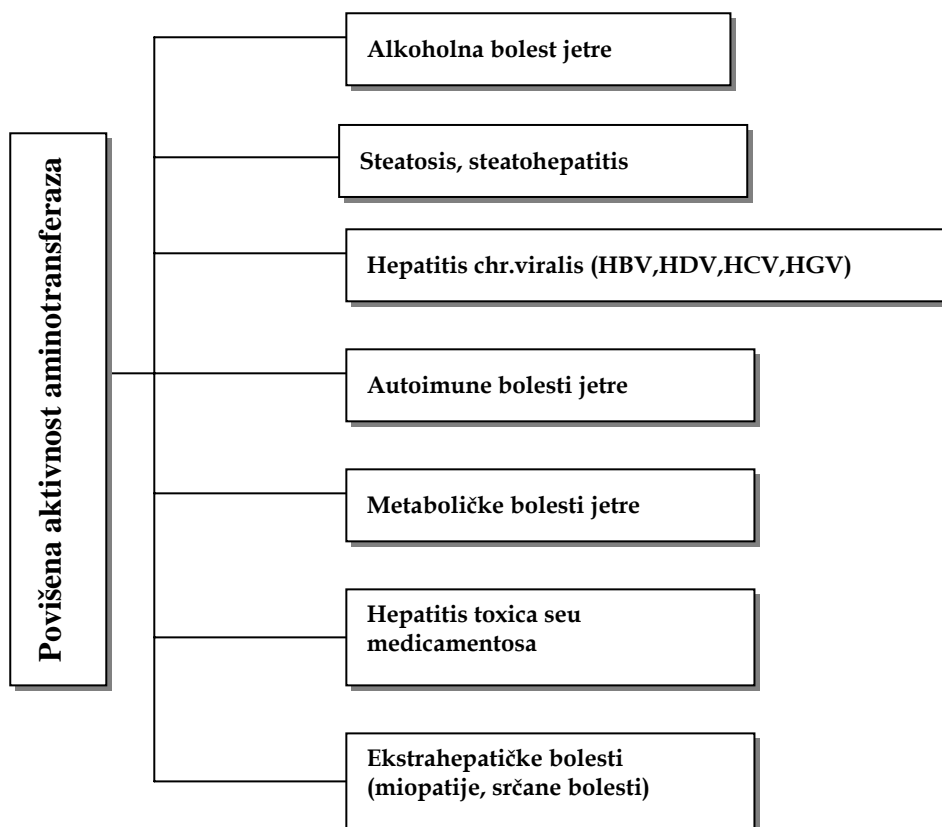
ALT je smeštena u citosolu hepatocita i ima tri puta duži poluživot od AST, koja se, takođe, nalazi u citozolu, ali i u mitondrijama (oko 40%). Normalan odnos između ALT i AST (*De-Ritisov* količnik) iznosi 1,0. AST se nalazi i u drugim tkivima (srčanom i skeletnom mišiću, bubrezima, mozgu, pankreasu, plućima, leukocitima i ertitrocitima), dok je ALT prisutna samo u jetri, te je zato mnogo specifičniji pokazatelj hepatocelularnog oštećenja [5].

Kod bolesnika sa **akutnim hepatitisom**, aktivnost aminotransferaza je povišena više od 10-15 puta u odnosu na referentne vrednosti i, po pravilu, aktivnost ALT je viša od AST. Prema tome, u slučaju epidemijske pojave akutnog virusnog hepatitisa, *scrining* test je određivanje aktivnosti ALT [6].

Porast aktivnosti AST/ALT do 8 puta nije specifičan i može se naći kod bilo kog oboljenja jetre. Takođe, stepen porasta aktivnosti aminotransferaza nema prognostički značaj kod akutnog hepatocelularnog oštećenja. Najviši nivoi aminotransferaza se nalaze kod bolesnika sa ishemijskim hepatitisom (npr. usled akutnog popuštanja miokarda), virusnim hepatitisom ili medikamentnim hepatitisom. Kod bolesnika sa akutnom bilijarnom opstrukcijom, aktivnost AST/ALT takođe dostiže visoke vrednosti, ali one rapidno padaju tokom 24-48h.

Kod bolesnika sa **hroničnim hepatitisom**, aktivnosti AST/ALT su obično povišene 2-5 puta. Izraženiji porast AST u odnosu na ALT (tzv. inverzija aktivnosti aminotransferaza) vidamo kod bolesnika sa hroničnom hepatocelularnom insuficijencijom (npr. ciroza jetre), kada se enzimi oslobađaju i iz mitohondrija. Količnik AST/ALT viši od dva može biti od koristi u postavljanju dijagnoze ciroze jetre. Bitno je i znati da kod bolesnika sa hroničnim hepatitisom postoji tzv. talasanje aktivnosti AST/ALT, što znači da postoje periodi, duži ili kraći, sa normalnom aktivnošću aminotransferaza. Ova činjenica nameće zaključak da normalna aktivnost aminotransferaza ne isključuje mogućnost hroničnog hepatitisa, pa čak i ciroze jetre. Da bi određivanje aktivnosti AST/ALT bilo od relevantnog značaja, neophodno je njihovo **kontinuirano** praćenje, na 2-3 meseca (Fig.1).

Fig.1. Algoritam ispitivanja bolesnika sa izolovanim povišenim aktivnostima aminotransferaza



Glutamat-dehidrogenaza

Ovaj enzim je isključivo lokalizovan u mitohodrijama hepatocita i izrazito je povišen kod centrolobulskih nekroza jetre, tj. kod sledećih kliničkih entiteta: kardijalno uslovljene zastojne jetre, alkoholne bolesti jetre i akutnog opstruktivnog ikterusa.

Laktat-dehidrogenaza

Ovaj enzim je u našem organizmu skoro ubikvateran, i zbog toga ima limitiran dijagnostički značaj. Povišen je kod oboljenja žučnih puteva, akutnog virusnog hepatitisa, ciroze jetre i, posebno, tumora jetre.

Testovi bilijarne ekskrecije

Biohemijske analize za određivanje poremećaja bilijarne ekskrecije (holestaze) podrazumevaju određivanje bilirubina i njegovih metabolita, kao i merenje aktivnosti enzima, čije oslobađenje iz jetre zavisi od stepena holestaze.

Bilirubin

U plazmi se bilirubin nalazi u dva različita oblika, kao:

- nekonjugovani i nerastvorljivi oblik u vodi koji se transportuje vezan za albumine od limforetikularnog sistema do jetre, i
- konjugovani i u vodi rastvorljiv oblik koji se iz jetre vraća ponovo u plazmu.

Normalno, većina bilirubina u plazmi je nekonjugovana. Merenjem bilirubina u plazmi određuje se zbir konjugovanog i nekonjugovanog oblika. Moguće je da se odvojeno meri koncentracija oba oblika, mada je za najšire potrebe zadovoljavajuće određivanje ukupnog bilirubina [4].

Poželjno je da se za određivanje bilirubina u plazmi koristi prvi jutarnji uzorak kako bi se izbegla pojava lipemije u uzorku. Ne treba koristiti ni hemolizovane uzorke, pošto hemoglobin daje lažno male vrednosti sa diazo metodom. Uzorke treba zaštititi od izlaganja direktnoj sunčevoj ili veštačkoj svetlosti, pošto konjugovani i nekonjugovani bilirubin podležu fotooksidaciji. Zato uzorak radi stabilnosti treba čuvati na tamnom i hladnom mestu.

Konjugovana hiperbilirubinemija ukazuje na postojanje poremećaja sekrecije žuči na nivou hepatocita (hepatocelularni ikterus) ili žučnih puteva (opstruktivni ikterus).

Nekonjugovana hiperbilirubinemija nastaje zbog poremećaja konjugacije bilirubina, a karakteriše se nivoom ukupnog bilirubina iznad $22 \mu\text{mol/l}$ i frakcijom konjugovanog biliurubina ispod 20%. Najčešći uzroci takve hiperbilirubinemije su hemoliza i Gilbertov sindrom.

Zbog velikog kapaciteta jetre za izlučivanje bilirubina, laki poremećaji hepatičke ekskrecije ne dovode do hiperbilirubinemije, te je taj parametar slabo senzitivnan u prepoznavanju oboljenja jetre. Takođe, nivoi bilirubina u serumu nemaju prognostički značaj niti govore o težini bolesti, izuzev kod alkoholne bolesti jetre [7].

Bilirubin u urinu

Bilirubin se može naći u urinu samo u hidrosolubilnom obliku, kao konjugovani (direktni) bilirubin. Sreće se kod porasta bilirubina u serumu, pre pojave žutice (ikterusa).

Urobilinogen u urinu

Urobilinogen se stvara u lumenu creva iz bilirubina, manji deo dospeva u sistemsku cirkulaciju i biva eliminisan urinom. Potpuno odsustvo urobilnogeno- gena u urinu, pri hiperbilirubinemiji, govori u prilog kompletne opstrukcije žučnih puteva.

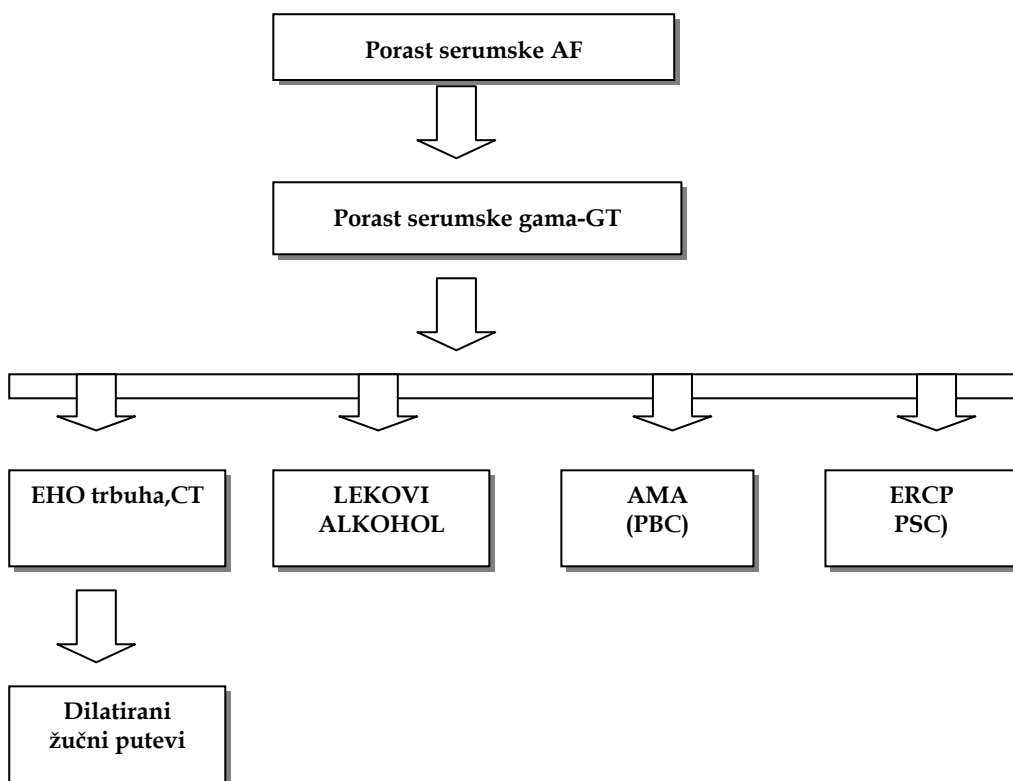
Alkalna fosfataza

Serumska AF je, kod odraslih osoba, primarno dobijena iz jetre, kostiju i u manjoj meri iz intestinalnog trakta. Kod dece i adolescenata glavno poreklo AF je iz osteoblasta i značajno je povišena u periodu rapidnog rasta. Placentna AF uzrokuje porast serumske AF u toku trudnoće. Međutim, povećanje AF se obično razmatra kao marker holestazne bolesti jetre, kada je ona obično povećana više od četiri puta.

Povećanje aktivnosti AF kod hepatobilijarnih oboljenja je posledica povećane sinteze u hepatocitima i epitelu žučnih puteva sa povećanim ulaskom u cirkulaciju.

Minimalno povećanje viđa se kod mnogih parenhimskih oboljenja jetre, dok se više vrednosti nalaze kod intrahepatičke holesataze ili opstrukcije žučnih puteva. AF ima poseban dijagnostički značaj kod bolesnika sa primarnom/sekundarnom bilijarnom cirozom ili primarnim sklerozirajućim holangitisom. Ukoliko je povišena i aktivnost gamaglutamil transpeptidaze, izvor AF je, gotovo sigurno hepatobilijarnog porekla (Fig.2).

Fig.2. Algoritam ispitivanja bolesnika sa izolovanim porastom aktivnosti serumske alkalne fosfateze i gama glutamil transpeptidaze.
AMA-antimihondrijalna antitela; PBC- primarna bilijarna croza;
ERCP- endoskopska retrogradna holangiopankreatografija;
PSC- primarni sklerozirajući holangitis.



Bolesnici sa infiltrativnim bolestima jetre, kao što su primarni ili sekundarni tumori jetre, tuberkuloza, sarkoidoza i druge granulomatoze, amiloidoza, leukemije, Hočkinova (*Hodgkin*) bolest i dr. mogu imati umereno povišenu aktivnost AF. Serumska AF, inače, nema prognostički značaj [1].

Gama-glutamil-transpeptidaza

Gama-GT je pretežno lokalizovana u membrani žučnih puteva i u endoplazmatskom retikulumu hepatocita. Ovaj enzim se smatra najosetljivijim indikatorom oboljenja hepatobiliarnog oboljenja, jer i mali poremećaj ćelijskog integriteta ili minimalne holestaze dovodi do značajnog porasta aktivnosti gama GT-a u serumu. Izrazito povećanje aktivnosti ovog enzima se nalazi kod bolesnika sa opstruktivnim ikterusom.

Pored toga, pošto se radi o indukovanom enzimu, sa prolongiranim poluživotom od 20 dana, on je odličan indikator oštećenja jetre, npr. alkoholom, lekovima ili toksinima [1,2].

Količnik gama GT/AF koji je veći od 2,5 ukazuje na alkoholnu bolest jetre. Generalno gledano, paralelno praćenje gama-GT, AF i AST/ALT može biti od velike koristi u razmatranju diferencijalno-dijagnostičkih problema u hepatologiji (Tab.2).

Tabela 2. Modeli biohemijskih abnormalnosti u bolestima jetre

Enzimi	Holestaza	Hepatocelularno oštećenje
AST/ALT	N do ↑	↑↑ do ↑↑↑
Alkalna fosfataza	↑↑ do ↑↑↑	N do ↑
Gama-GT	↑↑ do ↑↑↑	↑ do ↑↑

N- normalne vrednosti; ↑ - lako povišena aktivnost; ↑↑ - umereno povišena aktivnost; ↑↑↑ - izrazito povišena aktivnost

Dijagnostički značaj minimalnog ili umerenog porasta aktivnosti gama-GT je značajno limitirana činjenicom da taj enzim postoji i u drugim tkivima: bubrezi, pankreas, srce i mozak.

Leucin-aminopeptidaza

Enzim LAP je takođe ubikvitaran. Njegova aktivnost je naročito velika u epitelu žučnih puteva, te je značajno povišena kod bolesnika sa holestazom, npr. opstruktivnim ikterusom.

Testovi sintetskih funkcija jetre

Jetra je mesto sinteze većine serumskih proteina, izuzev imunoglobulina IgG, IgM i IgA koji se sintetišu u B limfocitima. Teška (značajna) i dugotrajna (hronična) oboljenja jetre dovode do umanjenja sinteze proteina i smanjenja njihovog nivoa u plazmi, npr. albumina, alfa-1 antitripsina, fibrinogena, ceruloplasmina, haptoglobina, transferina, faktora koagulacije i dr. Pri tome, profil plazma proteina zavisice od tipa, težine i trajanja oboljenja jetre.

Serumski albumin

Albumin je kvantitativno najznačajniji plazma protein: 40-60% od ukupnog proteina plazme pripada albuminima [4]. Sintetiše se samo u jetri u količini od 12g dnevno. Bolesnici sa cirozom jetre sintetišu dnevno oko 4g albumina. Poluživot albumina u plazmi je relativno dug, oko 22 dana, zbog čega se hipoalbuminemija sreće kod bolesnika sa hroničnom hepatocelularnom insuficijencijom. Bolesnici sa fulminantnim (munjevitim) oštećenjem jetre i pratećom akutnom insuficijencijom, imaju normalne vrednosti serumskog albumina.

Holinesteraza (ChE)

Holinesteraza se sintetiše u hepatocitima. Njen poluživot u serumu je relativno kratak, oko 10 dana, tako da se njena smanjena aktivnost može očekivati kod bolesnika sa akutnom ili hroničnom hepatocelularnom insuficijencijom.

Alfa-fetoprotein (AFP)

AFP je normalna komponenta proteina plazme kod humanog fetusa starijeg od 6 nedelja, i dostiže maksimalne koncentracijue između 12 i 16 nedelja fetalnog života. Nekoliko nedelja po rođenju, AFP se gubi iz cirkulacije.

Bolesnici sa primarnim tumorom jetre i bolesnici sa hepatocelularnom regeneracijom, imaju povišene nivoe AFP u plazmi. Ukoliko bolesnik sa akutnom insuficijencijom jetre ima visoke vrednosti AFP, ima realnu šansu da preživi i bez transplantacije jetre [1].

Faktori koagulacije

Većina faktora koagulacije se sintetizuje u jetri. Ti proteini deluju na kaskadni način pri ostvarivanju fibrinskog koaguluma. Najčešće se određuju: protrombin (II činilac), proakcelirin (V činilac) i prokonvertin (VII činilac). Nešto ređe se određuju: antihemofilni faktor B (IX činilac), *Stuartov* faktor (X činilac) i fibrinogen (I faktor).

Pošto imaju relativno kratak poluživot u plazmi, npr. FV samo 12-14h, pogodan su parametar hepatocelularne insuficijencije.

Najčešće se koristi određivanje protrombinskog vremena (PV) po *Quicku*, jer taj test zavisi od činilaca koagulacije koji se stvaraju u jetri. Kako sinteza II, VII i X faktora koagulacije zavisi od vitamina K, produženo PV može nastati ne samo zbog hepatocelularne insuficijencije, već i zbog deficita liposolubilnog vitamina K. Ovaj deficit se viđa kod poremećaja resorpcije masti (dugotrajna holestaza) ili oštećenje intestinalne flore (upotreba antibiotika i sterilizacija crevne flore). Parenteralnim davanjem vitamina K normalizuje se *Quickovo* vreme za 24-48h ukoliko je očuvana sintetska funkcija jetre.

Zbog velike funkcionalne rezerve jetre (kritična masa hepatocita iznosi 300-420 gr), poremećaj u hemostazi je retka komplikacija izuzev kod akutne insuficijencije jetre ili hronične bolesti jetre u terminalnom stadijumu [2,6].

Zaključak

Shodno svojoj veličini i funkciji, jetra je veoma bogata enzimima, tako da i minimalna izmena permeabiliteta hepatocita ima za posledicu izmenu koncentracije konstituenata jetrih ćelija u plazmi. Zbog toga, određivanje aktivnosti enzima u plazmi služi kao *screening* test za otkrivanje različitih oboljenja jetre. U tu svrhu, zbog velike specifičnosti za jetru i izvanredne osetljivosti, kao i zbog pristupačnosti i ekonomske opravdanosti, predlaže se određivanje enzima: ALT, gama-GT i ChE. Ta tri enzima ukazuju na različit tip oštećenja jetre: ALT u serumu ukazuju na oštećenje i izmenu permeabiliteta membrane hepatocita; povećanje gama-GT ukazuje na holestazu ili druga, uglavnom toksična oštećenja jetre koja stimulišu sintezu enzima vezanih za membranu i, smanjenje

ChE ukazuje na izmenjenu sintezu proteina ili smanjenu masu ćelija jetre, ili istovremeno na oba patomehanizma. Aktivnost tih enzima je u granicama referentnih vrednosti u manje od 2% bolesnika sa dokazanim oboljenjem jetre.

Imunološka dijagnostika

Nalaz cirkulišućih autoantitela ima veliki značaj u dijagnostici hroničnog autoimunog (autoagresivnog) hepatitisa i primarne bilijarne ciroze.

Antinukleusna antitela (ANA) se nalaze u visokom titru u više od 80% bolesnika sa hroničnim autoimunim hepatitisom. Njihov titar prati nivo povećanja imunoglobulina klase G [8]. Tokom terapije kortikosteroidima rapidno pada nivo *IgG*.

Bubrežno-hepatička mikrozomalna (LKM) antitela tip 1 su karakteristična za tešku formu hroničnog autoimunog hepatitisa.

Anti-DNA antitela, kao nespecifični znak zapaljenjskog procesa, povećana su u svim podvrstama hroničnog autoimunog hepatitisa.

Anti glatkomišićna antitela (ASMA) su dokazana kod više od 70% bolesnika sa hroničnim hepatitisom. Povećana su kod 50% bolesnika sa primarnom bilijarnom cirozom. U niskoj koncentraciji i prolaznog karaktera prisutna su i kod bolesnika sa akutnim virusnim hepatitisom.

Antimitohondrijalna antitela (AMA) se nalaze u visokom titru kod više od 80% bolesnika sa primarnom bilijarnom cirozom. Pored toga, povišeni su i nivoi imunoglobulina klase M. AMA su najčešće odsutna kod bolesnika sa hroničnim autoimunim hepatitisom, ili im je koncentracija niska.

Imuni kompleksi (CIC). Različitim imunološkim metodima mogu se dokazati u povećanoj koncentraciji kod bolesnika sa primarnom bilijarnom cirozom, primarnom sklerozirajućem holangitisu i hroničnom virusnom hepatitisu. Ovaj nalaz ima samo dijagnostički značaj, dok je na terapijskom planu gotovo bez vrednosti [1].

Virusloška dijagnostika

Direktnim testovima (imunohistohemija, PCR, molekularna hibridizacija, *ELISA*, *Western blot*) dokazuju se virusni antigeni i virusna RNK ili DNK u bolesničkom materijalu, a indirektnim testovima (*ELISA*, *RIA*) imunološki odgovor domaćina na prisustvo virusa (proizvodnja specifičnih antivirusnih antitela). U svakodnevnoj lekarskoj praksi koriste se komercijalni testovi za dokazivanje virusnih antigena i antitela *IgG* i *IgM* klase *ELISA* metodom [9].

Kod bolesnika sa *hepatitisom A*, sa prvim simptomima bolesti javljaju se anti-HAV IgM antitela u serumu i održavaju se 8-12 nedelja. Anti-HAV IgG antitela ukazuju na imunitet, pojavljuju se od druge nedelje infekcije i traju doživotno.

Kod bolesnika sa *akutnim hepatitisom B*, HBsAg se pojavljuje u serumu posle 3-4 nedelje od inokulacije, a iščezavaju posle 1-2 meseca od početka bolesti. U periodu između iščezavanja HBsAg i pojave anti-HBs antitela, koje traje 1-4 nedelje, u serumu su prisutna anti-HBc IgM antitela. Prisustvo HBeAg, DNK polimeraze i HBV-DNK u serumu ukazuje na replikaciju virusa hepatitisa B u inficiranim ćelijama. Perzistiranje HBsAg duže od 6 meseci, ukazuje na hroničnu HBV infekciju (Tab.3).

Tabela 3. Serološki markeri virusa hepatitisa B i njihovo tumačenje

Faza	HBsAg	HBeAg	anti-HBs	anti-HBe	anti-HBc IgM	IgG
Inkubacija	+	+	∅	∅	∅	∅
Akutni hepatitis B	+	+	∅	∅	+	+
Oporavak	∅	∅	+	+	±	+
Ozdravljenje	∅	∅	+	∅	∅	+
Nosilac virusa	+	±	∅	±	±	+
Vakcinisan	∅	∅	+	∅	∅	∅

Dijagnoza *hepatitisa D* zasniva se na dokazivanju anti-HDV IgM i IgG antitela u serumu ELISA metodom. Dokazivanje HDAg u tkivu jetre, npr. imunohistohemijskim metodima, ne koristi se u rutinskoj dijagnostici.

Dijagnoza *akutnog hepatitisa C* se, u svakodnevnoj praksi, postavlja nalaženjem anti-HCV antitela. Iako noviji ELISA testovi otkrivaju antitela kod preko 90% inficiranih, pojava antitela može biti odložena kod bolesnika sa akutnim hepatitisom C čak do 9 meseci od početka bolesti. U tom periodu, čak i u drugoj polovini inkubacije, bolesnik je HCV RNK pozitivan.

Dijagnoza *hepatitisa E* se postavlja nalaženjem anti-HEV IgM antitela u serumu na početku bolesti. Prisutna su oko 3 meseca, najduže do 16 meseci. Anti-HEV IgG antitela pojavljuju se u 2-3. nedelji bolesti i održavaju se godinama.

Dijagnoza *hepatitisa G* se postavlja nalaženjem ukupnih anti-HGV antitela. Postoji mogućnost dokazivanja HGV RNK u serumu PCR metodom [6].

Literatura

1. Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the liver and biliary system*. London: Blackwell Science; 1997.
2. Popović O. *Gastroenterologija u 100 lekcija*. Beograd: Savinac; 1995.
3. Babić M. *Skrining u medicini*. Beograd: Jugoslovenska fondacija protiv raka; 2001.
4. Majkić-Singh N. *Medicinska biohemija*. Beograd: Farmaceutski fakultet; 1994.
5. Sherman KE. *Alanine aminotransferase in clinical practice: a review*. Arch Intern Med 1991; 2: 260-9-
6. Delić D, Mikolić P, Božić M. *Virusni hepatitisi*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1998.
7. Fevery J, Blanckaert N. *What can we learn from analysis of the serum bilirubin?* J Hepatol 1986; 2: 113-8.
8. Wolf PL. *Interpretation of electrophoretic patterns of serum proteins*. Clin Lab Med 1986; 6: 441-8.
10. Žerjav S. *Laboratorijska dijagnostika oboljenja prouzrokovana mikoplazmama, hlamidijama i virusima*. In: Delić D, editor. *Infektivne bolesti- laboratorijska dijagnostika i lečenje*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2001; 337-63.

RELEVANT LABORATORY ANALYSES APPLIED IN HEPATOBILIARY SYSTEM TESTING

Dragan Delić

Institute of Infective and Tropical Diseases, Clinical Center of Serbia, Belgrade

Different liver diseases lead to liver function imbalance and even hepatocellular failure with irreversible homeostatic disorder. All the diseases are also accompanied by enzyme level changes of cytosol or mitochondrial origin or those associated with the hepatocytic membrane. Clinical-chemical tests used for liver function evaluation may be roughly classified according to the pathomechanism into the tests: a) used for identification of the parenchymal cell permeability disorder, b) indicating necrolysis of the liver cells, c) indicating failure of the mechanisms producing proteins in the endoplasmic reticulum of the parenchymal cells, d) indicating obstruction of the intra- and extrahepatic biliary ducts and e) indicating proliferation of the mesenchymal function in the liver. All the tests should be selected to include as much as possible different liver functions, they should be repeated in order to monitor dynamically course of the disease, and finally, they should be always assessed in correlation with the general clinical picture.

Due to their high liver specificity and excellent sensitivity as well as their availability and cost effectiveness, the following liver enzymes determination methods are proposed as screening tests for detection of different liver diseases: alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transpeptidase (gamma-GT) and cholinesterase (ChE). These three enzymes suggest different types of the liver defects: serum ALT indicates hepatocytic membrane permeability impairment and alteration; gamma-GT indicates cholestasis or other, mostly toxic defects of the liver while reduced ChE indicates altered protein synthesis and/or reduced liver cell mass. Activity of the enzymes is within the reference values in less than 2% of the patients with verified liver diseases.

Increased immunoglobulin levels associated with finding of circulating antibodies (antinuclear, antimitochondrial, etc.) are highly important in diagnosis of the chronic autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis.

The exact diagnosis of the acute and chronic viral hepatitis is based on direct and indirect virological tests. The most frequently applied tests in everyday medical practice are those used for verification of viral antigens and antibodies of IgG and IgM class according to ELISA method.

Key words: