

# Biochemická vyšetření jater

## Jaterní tkáň

Játra mají nezastupitelnou roli v intermediárním a energetickém metabolismu sacharidů, lipidů a dusíkatých látek, zabezpečují inaktivaci a exkreci endogenních látek a detoxikaci exogenních látek, jsou hlavním místem syntézy plazmatických proteinů a koagulačních faktorů.

Onemocnění jater vyvolává změny četných biochemických parametrů v séru. Laboratorní testy poskytující informaci o různých funkcích jater a jsou důležité pro diagnostiku jaterních chorob. Na základě jejich stanovení lze odhadnout intenzitu poškození jaterního parenchymu.

Pro pochopení interpretace výsledků „**jaterních testů**“ je nezbytná znalost morfologie jaterní tkáně. Asi 72 % tvoří hepatocyty. Kupfferovy buňky, endotel a tukové buňky se podílejí asi 8 % a 1 % buněk tvoří žlučové cesty. Zbytek z celkového objemu jater představuje extracelulární tekutina. Rozsah poškození jednotlivých struktur se liší podle typu onemocnění. Akutní poškození jater (např. virové hepatitidy) je charakterizováno porušením především hepatocytů. U jiných onemocnění může dominovat porucha odtoku žluči spojená s poškozením buněk žlučových kapilár.

## Biochemické vyšetření jater

Biochemické testy určené pro vyšetřování jater a žlučových cest můžeme rozdělit do několika skupin:

### Ukazatele poškození hepatocytu

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Parametry poškození hepatocytu.*

V důsledku poškození cytoplazmatické membrány, např. zánětem nebo hypoxií, dochází ke zvýšení její propustnosti a do extracelulárního prostoru se uvolňují **enzymy lokalizované v cytoplasmě**. Nejcitlivějším indikátorem porušení membrány hepatocytu je zvýšený únik **alaninaminotransferázy (ALT)** do cirkulace. Dalšími enzymy, které pronikají z hepatocytů do cirkulace, je cytoplazmatický izoenzym **aspartátaminotransferázy (cAST)** a jaterní izoenzym laktátdehydrogenázy (LD<sub>5</sub>). Zvýšení aktivity cytoplazmatických enzymů v séru je známkou reverzibilního poškození hepatocytu.

Při závažnějším onemocnění jater doprovázeném rozpadem hepatocytu (nekrózou) se do cirkulace dostávají nejen cytoplazmatické enzymy, ale i enzymy lokalizované v **mitochondriích**. Diagnostický význam má především **glutamátdehydrogenáza (GMD)** a mitochondriální izoenzym **AST (mAST)**. Nález zvýšených aktivit mitochondriálních enzymů svědčí pro ireverzibilní, prognosticky závažné poškození jater.

### Ukazatele cholestázy

**Cholestáza** neboli městnání žluči v játrech může vzniknout z **mechanických příčin** (obstrukce žlučových cest konkrementem nebo tumorem) nebo z **poruchy funkce**, např. zánětem, působením některých léků nebo na podkladě dědičných poruch. Cholestáza je doprovázena zvýšením aktivity enzymů nacházejících se v **membráně endotelu** žlučovodů a v **kanalikulární membráně** hepatocytů a poruchou odtoku bilirubinu do střev. V klinické praxi se běžně vyšetřují enzymy **alkalická fosfatáza (ALP)** a **γ-glutamyltransferáza (GGT)**, dále **bilirubin** v krvi a moči a **urobilinogen** v moči.

## Ukazatele biosyntetických funkcí jater

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Parametry syntetické funkce jater.*

Intenzitu proteosyntetických funkcí jater odráží především stav zrnitého endoplazmatického retikula, kde probíhá tvorba většiny plazmatických bílkovin, ale i syntéza tzv. „exportních proteinů“ jako jsou některé enzymy (např. cholinesteráza) a koagulační faktory. Stanovení těchto analytů má význam především u chronických jaterních onemocnění. Na rozdíl od enzymů cytoplazmatických a mitochondriálních, jejichž aktivita se při poškození jater zvyšuje, se pokles proteosyntézy projevuje jejich snížením. Pro diagnostické účely se používá především stanovení sérové **cholinesterázy**, sérového **albuminu** nebo **transferinu** a **koagulačních faktorů**.

## Vybraná biochemická vyšetření u jaterních onemocnění

### Aminotransferázy

**Aminotransferázy** jsou enzymy, které katalyzují transaminaci (přenos aminoskupiny z aminokyseliny na ketokyselinu a naopak). V klinické praxi jsou nejdůležitějšími markery alaninaminotransferáza a aspartátaminotransferáza, které **odrážejí integritu hepatocytů**. Z toho vyplývá, že při poškození jaterního parenchymu dojde ke zvýšení těchto markerů v séru.

## Alaninaminotransferáza (ALT)

Cytoplazmatický enzym, primárně lokalizovaný v játrech, který se **uvolňuje při poškození buněčné membrány**. Jedná se o vysoce **specifický marker** pro jaterní onemocnění. Ke zvýšení sérových hodnot dochází již při malém poškození. Dále je obsažen i v kosterních svazech, z čehož vyplývá, že ke zvýšení sérových hodnot dochází i u myopatií.

Fyziologickou funkcí ALT je katalýza transaminační reakce, při níž se reverzibilně přenáší aminoskupina z alaninu na 2-oxoglutarát, za vzniku pyruvátu a glutamátu. Kofaktorem je pyridoxal-5'-fosfát.

### Fyziologické hodnoty S-ALT

Muži	do 0,80 $\mu\text{kat/l}$
Ženy	do 0,60 $\mu\text{kat/l}$

Sledování ALT je vhodné pro monitoring průběhu onemocnění.

## Aspartátaminotransferáza (AST)

Enzym, který se vyskytuje ve dvou formách – **cytoplazmatický** (AST1, v jaterním parenchymu asi 20 %) a **mitochondriální** (AST2, v játrech asi 80 %)<sup>[1]</sup>. Cytoplazmatická frakce se uvolňuje do cirkulace poměrně snadno, i při mírném poškození buněk. Mitochondriální frakce se dostává do krve teprve při **nekróze buněk**. Vyskytuje se především v játrech, ale také ho najdeme v kosterním svalstvu, myokardu, ledvinách, mozku, pankreatu a erytrocytech.

Jeho fyziologickou funkcí je katalýza reverzibilní transaminace z aspartátu na 2-oxoglutarát. Kofaktorem reakce je pyridoxal-5'-fosfát.

Jedná se o poměrně nespecifický ukazatel. Velmi vysoké hodnoty nacházíme u **závažného jaterního poškození** (virové hepatitidy, polékové a toxické poškození jater, akutní ischemie, cirkulační šok), při kterém bývají zvýšeny i hodnoty ALT. Dále doprovází poškození kosterního svalstva, infarkt myokardu, po operacích, ale i po dlouhotrvající fyzické námaze.

### Fyziologické hodnoty S-AST

Muži	do 0,85 $\mu\text{kat/l}$
Ženy	do 0,60 $\mu\text{kat/l}$

## Stanovení hodnot ALT a AST

Pro stanovení koncentrace katalytické aktivity AST a ALT je doporučena metoda založená na principu Warburgova optického testu.

### Stanovení hodnot ALT

Je založeno na transaminační reakci, která je spřažena s indikační reakcí. Donorem aminoskupiny v transaminační reakci je alanin. Pro indikační reakci používáme enzym laktátdehydrogenázu (LD), která zároveň plní funkci enzymu zabezpečujícího redukci endogenních oxokyselin.

*Postup:*

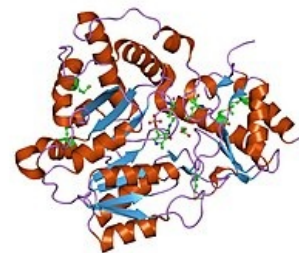
- V první reakci katalyzované ALT vzniká z alaninu pyruvát, který je následně redukován na laktát v indikační reakci katalyzované LD, kterou přidáme do reakční směsi společně s NADH.
- Redukce pyruvátu na laktát je doprovázena úbytkem NADH, který se projeví poklesem absorbance při 334, 340 nebo 365 nm. Katalytická koncentrace ALT je úměrná poklesu absorbance.

### Stanovení hodnot AST

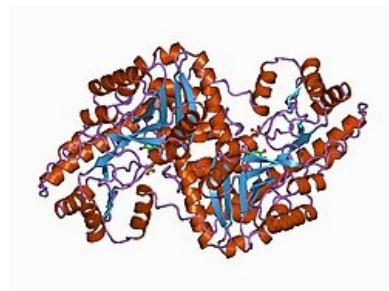
Je založené podobně jako u ALT na transaminační reakci spřažené s indikační reakcí. Donorem aminoskupiny v transaminační reakci je aspartát, a enzymem pro indikační reakci malátdehydrogenáza (MD).

*Postup:*

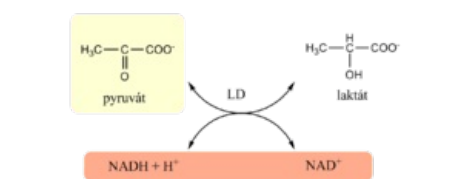
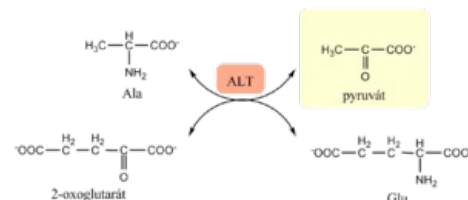
- V první enzymové reakci, katalyzované AST, se tvoří oxalacetát. Ten je v další indikační reakci redukován malátdehydrogenázou na malát, za současné oxidace NADH na NAD<sup>+</sup>.
- Na základě úbytku NADH určíme aktivitu AST (úměrná poklesu absorbance při 334, 340 nebo 365 nm).
- V reakční směsi je přítomen pyridoxal-5'-fosfát, který zabezpečuje dostatečnou saturaci AST a tím i plnou aktivitu enzymu. Přítomnost laktátdehydrogenázy je nezbytná k tomu, aby se zajistila redukce endogenního pyruvátu (zabránění falešně vyšších výsledků).



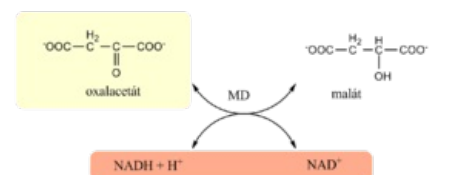
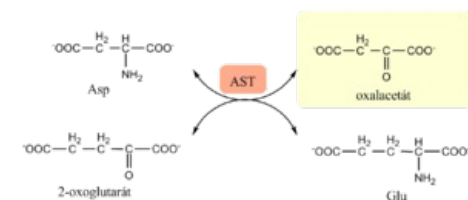
ALT



AST



Stanovení S-ALT



Stanovení S-AST

## Klinicko-biochemické využití

Aminotransferázy jsou součástí tzv. jaterních testů, a významně se uplatňují v diagnostice jaterních onemocnění. Hodnoty jaterních transamináz jsou zvýšeny u většiny jaterních onemocnění. Hodnota ALT obvykle převyšuje hodnotu AST.

Nejvyšší hodnoty nacházíme u akutních **virových hepatitid**, proto které je charakteristické zvýšení koncentrací AST a ALT na několiknásobnou hodnotu. Vzestup o dvoj- až trojnásobek hodnot lze zaznamenat již v prodromálním stádiu onemocnění. Elevace vrcholí 7.–12. den po nástupu ikteru (maximum až 100  $\mu\text{kat/l}$ ). K normalizaci hodnot dochází obvykle 5.–8. týden. Výrazně (řádově desetinásobně), ale jen krátkodobě bývají transaminázy zvýšené při těžkých biliárních kolikách. Ostatní jaterní léze jsou zpravidla doprovázeny mírnějším, maximálně pětinasobným vzestupem aktivity a při chronických onemocněních jater bývají aktivity transamináz často jen těsně nad horní hranici referenčního rozmezí.

Kromě samotných hodnot v séru, je pro nás důležitým ukazatelem i **poměr obou enzymů AST/ALT** (de Ritisův index). Hodnoty nad 1 bývají prognosticky závažnější. Hodnoty vyšší než 2 jsou specifické pro alkoholové poškození jater.

Obecně lze říct, že míra vzestupu transamináz odráží rozsah jaterního poškození, ale nelze vyvodit informace o etiologii či jaterní funkci. Také je třeba mít na paměti, že při **úbytku funkční jaterní tkáně**, např. při cirhóze jater, se může množství buněk snížit natolik, že sérové aktivity transamináz spadají do referenčního rozmezí nebo jen těsně nad něj i při rozsáhlé jaterní lézi.

## $\gamma$ -glutamyltransferáza

**$\gamma$ -glutamyltransferáza (GGT, dříve též GMT, EC 2.3.2.2)** je klíčovým enzymem  **$\gamma$ -glutamylového cyklu**, který zabezpečuje transport některých aminokyselin a peptidů přes buněčnou membránu z extracelulární tekutiny do buněk.

GGT katalyzuje přenos  $\gamma$ -glutamylové skupiny: z  $\gamma$ -glutamylpeptidů na jiné peptidy, aminokyseliny nebo vodu. Donorem  $\gamma$ -glutamylového zbytku je tripeptid **glutathion** ( $\gamma$ -glutamylcysteinylglycin) nacházející se v buňkách živočichů, rostlin i bakterií. Chrání organismus před oxidačním stresem (podílí se na odstraňování peroxidu vodíku). Je obnovován reakcí katalyzovanou glutathionreduktázou.

### Výskyt GGT

Membrány buněk s vysokou sekreční nebo absorpční kapacitou, játra (mikrozomální frakce hepatocytů a membrány buněk výstelky žlučových cest), proximální tubuly ledvin, enterocyty a pankreas.

Syntézu GGT indukují i některá léčiva (barbituráty, antidepresiva, alkohol). Také se může uvolnit z membrán detergentním působením, např. žlučových kyselin nebo alkoholu.

### Hodnocení sérové aktivity GGT

**Zvýšení GGT** je typické především pro **poškození hepatobiliárního traktu**. K tomu dochází při intrahepatální nebo extrahepatální **cholestáze** (v těchto případech je zvýšena i alkalická fosfatáza), hepatocelulárním poškozením – akutní a chronická jaterní onemocnění, nádory jater a pankreatu.

Vysoké izolované zvýšení GGT může být známkou poškození jater z důvodů chronického požívání **alkoholu**. Zvýšená aktivita je u alkoholiků i v případě, že ještě nejsou poškozena játra (indukce syntézy GGT).

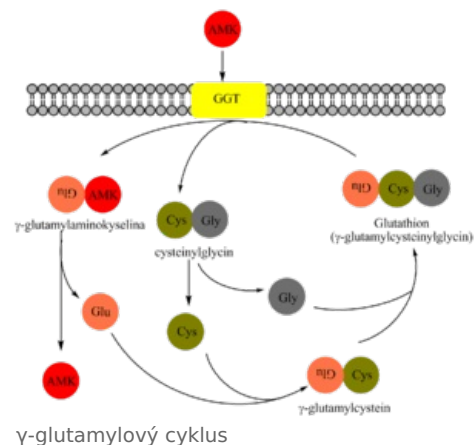
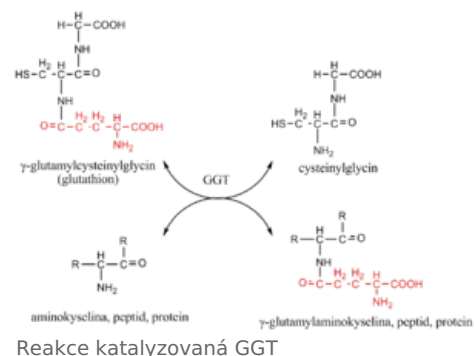
### Stanovení GGT

Princip stanovení vychází z reakce, kterou GGT katalyzuje fyziologicky v organismu. Sleduje se přenos  $\gamma$ -glutamylového zbytku ze substrátu na akceptor, kterým je glycylglycin. Jako substráty se používají L- $\gamma$ -glutamyl-p-nitroanilid nebo L- $\gamma$ -glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilid. V průběhu reakce se po přenosu  $\gamma$ -glutamylového zbytku na akceptor uvolňuje barevný p-nitroanilin (ze substrátu L- $\gamma$ -glutamyl-p-nitroanilidu) nebo 5-amino-2-nitrobenzoát (ze substrátu L- $\gamma$ -glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilidu), jejichž přírůstek je přímo úměrný aktivitě GGT ve vyšetřovaném vzorku.

Fyziologické hodnoty fS-GGT	
Muži	<b>0,14–0,84 <math>\mu\text{kat/l}</math></b>
Ženy	<b>0,14–0,68 <math>\mu\text{kat/l}</math></b>

Fyziologicky jsou vyšší hodnoty GGT u mužů, vzhledem k vyššímu obsahu v prostatě.

[zdroj?]



## Karbohydrátdeficientní transferin

Za nejlepší biochemický marker jedné z nejčastějších příčin poškození jater, abusu alkoholu, byla do nedávna považována  $\gamma$ -glutamyltransferáza (GGT). V současné době přibývá další parametr, **karbohydrát deficientní transferin** (CDT).

Transferin obsahuje jako glykoprotein ve své molekule obvykle čtyři až šest zbytků kyseliny sialové. Při chronickém abusu alkoholu (60 g alkoholu za den po dobu alespoň dvou až tří týdnů) se zvyšuje podíl transferinu, v jehož struktuře kyselina sialová chybí (0-2 sialové kyseliny na molekulu) – tzv. karbohydrát deficientní transferin (CDT). Za známku chronického abusu alkoholu se považuje, překročí-li podíl CDT 6 % z celkového transferinu. Hladina CDT zůstává zvýšena ještě asi 2 týdny od začátku abstinence.

1. SEPULVEDA, Jorge L.. *Challenges in routine clinical chemistry analysis*. In Amitava Dasgupta, Jorge L. Sepulveda titl. *Accurate Results in the Clinical Laboratory*. 2. vydání. Elsevier, 2019. s. 141-163. ISBN 9780128137765