

BIOHEMIJSKI I SEROLOŠKI MARKERI ZA OTKRIVANJE I PRAĆENJE BOLESTI JETRE

Violeta Dopsaj^{1,2}, Zorica Šumarac¹

¹Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd

²Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd

Kratak sadržaj: Postavljanje dijagnoze bolesti jetre i utvrđivanje njenog funkcionalnog stanja temelji se na kombinaciji biohemijjskih analiza, seroloških markera i različitih dijagnostičkih neinvazivnih i invazivnih postupaka. Zbog primene različitih dijagnostičkih protokola ukazala se potreba za uspostavljanjem visokih, zajedničkih, sveobuhvatnih standarda u rutinskoj medicinskoj praksi, koji se odnose na postupke dijagnostike i lečenja bolesti jetre. AACC i IFCC su nakon više godina zajedničkog rada 2000. god. dale preporuke kroz vodič za skrining, dijagnozu i monitoring bolesti jetre. Kategorije preporuka date su u četiri nivoa (I–IV), a kvalitet i jačina dokaza na kojima su preporuke zasnovane kao A–E. Alanin aminotransferaza je najvažniji biohemijjski parametar za razlikovanje akutnog i hroničnog hepatitisa. Preporučena ukupna greška određivanja ALT $\leq 10\%$ na gornjoj referentnoj granici treba da omogući efikasnije kliničko praćenje pacijenata sa hroničnim hepatitisom. Neopходna je interlaboratorijska harmonizacija rezultata ALT i izrada posebnih referentnih granica za enzime kod dece, a za AST i ALT, γ -GT, i ukupan bilirubin za odrasle prema polu. U bolestima jetre, rezultate protrombinskog vremena treba izražavati u sekundama a ne u INR, dok se ne definiše najbolja korelacija između izražavanja PT i funkcionalnog oštećenja jetre. S obzirom da bolesti jetre, bez obzira na etiologiju, pokazuju sličan tok, mesto biohemijjskih testova je danas značajnije u ranom otkrivanju i praćenju bolesti, efekata terapije i prognoze bolesti, nego u diferencijalnoj dijagnozi. Serološki markeri su specifični testovi u diferencijalnoj dijagnozi virusnog hepatitisa, akutnog i hroničnog, i praćenju oporavka od hepatitisa B i C.

Cljučne reči: bolesti jetre, vodič, AST, ALT, PT, serološki markeri, hepatitis

Uvod

Jetra ima centralnu ulogu u intermedijarnom metabolizmu i odgovorna je za detoksikaciju, deaminaciju aminokiselina i sintezu uree, sintezu i ekskreciju žuči, metabolizam nekih hormona, sintezu proteina plazme, i depo nekih vitamina (1). Postavljanje dijagnoze jetrenog oboljenja temelji se na kombinaciji laboratorijskih analiza i drugih dijagnostičkih metoda: ultrazvuk, kompjuterizovana tomografija (CT), endoskopska ispitivanja (EGD, ERCP). Kliničko-biohemijjske manifestacije jetrenih bolesti uključuju: žuticu (ikterus), portalnu hipertenziju, krvarenja iz varikoziteta jednjaka, promenjen metabolizam lekova, nutricionu i metaboli-

čke promene, poremećaje hemostaze, povećanu aktivnost enzima u serumu, nastajanje ascita i encefalopatiju. Patološki laboratorijski rezultati su često prvi pokazatelji različitih bolesti jetre mada rezultati u referentnom intervalu ili blago povišene vrednosti ne isključuju bolest jetre. Zlatni standard za otkrivanje bolesti i određivanje uzroka bolesti jetre je biopsija.

Iako su zbog velike funkcionalne rezerve jetre biohemijjski testovi često nedovoljno osetljivi indikatori poremećene funkcije, oni su visoko osetljivi markeri oštećenja jetre (2, 3). S druge strane biohemijjskim parametrima se može otkriti priroda jetrenog oboljenja, ali veoma retko se na osnovu njih može postaviti specifična dijagnoza. Ipak, malo je verovatno da se pomoću bilo kog biološkog markera pojedinačno može otkriti patološki proces pa se zato mora koristiti standardni profil za početno ispitivanje jetre koji se sastoji od više biohemijjskih i hematoloških parametara. Ovi parametri su jednostavni za izvođenje, imaju relativno nisku cenu koštanja i mogu da odgovore na tri osnovna pitanja: da li postoji bolest jetre, ako pos-

Adresa autora:

Violeta Dopsaj
Klinički centar Srbije
Institut za medicinsku biohemiju, Poliklinika
Višegradska 26, 11000 Beograd
e-mail: violetap@eunet.yu

toji koja je priroda i stepen oštećenja tkiva jetre (3). Negativni rezultati su takođe od velike važnosti jer ukazuju na malu verovatnoću postojanja bolesti. U daljem ispitivanju, kada se primenom drugih dijagnostičkih metoda postavi konačna dijagnoza bolesti, ovi testovi su od neprocenjivog značaja za praćenje toka bolesti i efekata terapije.

Bolesti jetre je najjednostavnije podeliti na: hepatitis (postoji oštećenje hepatocita), cirozu (fibrozom zahvaćeno tkivo jetre smanjuje masu funkcionalnog parenhima), i tumore (najčešće su metastaze karcinoma drugih organa i tkiva). Pacijenti sa jetrenim oboljenjem imaju karakteristične simptome i znake, ali klinička slika može biti i nespecifična, pa se kod nekih pacijenata oboljenje jetre otkrije slučajno. Zbog bliske veze jetre sa bilijarnim traktom, ekstrahepatična bilijarna oboljenja mogu imati kliničku sliku jetrenog oboljenja, na pr. opstrukcija u bilijarnom traktu može izazvati žuticu, a ako dugo traje, i cirozu (1, 4, 5). Povišen bilirubin u plazmi je čest ali nepostojan nalaz kod pacijenata sa oboljenjem jetre. Konjugovana hiperbilirubinemija je rezultat ekstrahepatične bilijarne opstrukcije dok je blaga, nekonjugovana hiperbilirubinemija najčešće rezultat hemolize. Visoko povećane vrednosti aminotransferaza ukazuju na hepatocelularno oštećenje, dok je jako uvećan ALP karakterističan za opstrukciju bilijarnog trakta.

Prema etiologiji bolesti jetre se klasifikuju kao: infektivne, toksične, genske, imunološke i neoplastične; a prema tipu patološkog procesa na: hepatitis (akutni ili hronični), cirozu, i holestazu.

Laboratorijski testovi u ispitivanju bolesti jetre

Laboratorijski testovi se izvode za procenu funkcije jetre, otkrivanje bolesti, postavljanje dijagnoze, praćenje efekata terapije i prognoze bolesti. Svi testovi se mogu podeliti u tri grupe (5):

1. Biohemijski testovi koji se koriste za procenu:
 - a) ekskretorne funkcije jetre (bilirubin, žučne kiseline),
 - b) sintetske funkcije (albumin, faktori koagulacije-PT, urea, lipidi i lipoproteini),
 - c) metaboličke funkcije (amonijak),
 - d) oštećenja jetrenog tkiva (AST, ALT, GGT, 5'-nukleotidaza);
2. Testovi koji se primenjuju u razlikovanju uzroka bolesti (serološki testovi za otkrivanje antigena i antitela virusa hepatitisa A–G, mikroelementi, specifični proteini, tumorski markeri, autoantitela);
3. Dinamički funkcionalni testovi kojima se ispituje klirens egzogeno unetih supstanci (npr. klirens kofeina, test eliminacije galaktoze, klirens monoetilglicin-eksilida-MEGX).

Interpretacija rezultata biohemijskih testova

Interpretacija laboratorijskih rezultata zahteva odgovarajuće znanje o svim uticajima na rezultat analize, gde spadaju biološki i metodološki faktori važni za parametar koji se određuje, kao i pouzdanost analize. Takođe je neophodno i razumevanje statističkih podataka koji se odnose na distribuciju rezultata kod zdravih osoba i bolesnih radi korektno selekcije laboratorijskih analiza. Svaka laboratorijska analiza ima svoju dijagnostičku ili kliničku vrednost koja definiše mogućnost tog parametra da ispitanike pouzdano svrsta u kategoriju zdravih ili bolesnih. Kvantifikacija dijagnostičke vrednosti nekog testa opisuje se kroz pojmove kao što su dijagnostička osetljivost, specifičnost, prediktivna vrednost, gornja i donja granica referentnog intervala, granica odluke (1, 2, 7). Granica odluke je od velikog značaja jer označava određenu vrednost iznad ili ispod kojega se lekaru preporučuje određeno delovanje, tj. preduzimanje daljih mera u obradi bolesnika. To su ustvari granične vrednosti laboratorijske analize koje potvrđuju ili isključuju neku bolest ili grupu bolesti. Na pr. ALT (RV 10–36 U/L) imaju granicu odluke 85 i 426 U/L. Ako je ALT u referentnom intervalu to sa sigurnošću pokazuje da jetra nije oštećena, naročito ako je ista vrednost dobijena u više kontrola pacijenta. Vrednosti između 40 i 85 U/L upućuju na potrebu provere nalaza posle nekog vremena, dok su vrednosti između 85 i 426 U/L sigurno patološke, ali se ne radi o virusnom ili toksičnom hepatitisu već u obzir dolaze druge bolesti hepatobilijarnog trakta (alkoholni hepatitis, ciroza jetre, holestaza), infektivna mononukleoza ili polimiozitis. Ako su vrednosti iznad 426 U/L najverovatnije je tome uzrok virusni ili toksični hepatitis (5).

Osim ključnih, ciljanih analiza koje omogućavaju postavljanje konačne dijagnoze, lekar može tražiti i dodatne analize koje će ukazati na moguće patološke procese koji prate neku bolest, eventualne komplikacije, težinu bolesti, ako je prisutan i neki drugi patološki proces (8). Ako je rezultat laboratorijske analize neočekivan i lekar ga ne može protumačiti, treba analizu najpre nakon nekog vremena ponoviti. Takav nalaz se ne sme zanemariti već ga treba razjasniti. Jedan od načina je da se zatraže druge analize koje mogu da pomognu u razjašnjenju problema. Na pr. uzrok za povećanu ALP u serumu treba dodatno tražiti određivanje izoenzima ALP kako bi se videlo da li je ukupna aktivnost povećana na račun koštanog, jetrenog ili crevnog izoenzima. Takođe može pomoći određivanje GGT, čija će aktivnost isključiti ili potvrditi bolest jetre kao uzrok visoke aktivnosti ALP u serumu (7, 8).

U hepatobilijarnim bolestima pred kliničarem se postavljaju mnogobrojna pitanja na koja treba odgovoriti. Kako su ove bolesti često praćene žuticom (ukupan bilirubin > 34 mmol/L), prvo pitanje je da li je žutica rezultat hemolitičkog, hepatocelularnog ili infiltracijskog procesa, ili je rezultat ekstrahepatične opstrukcije (5). Ako se radi o hepatocelularnom oštećenju treba utvrditi da li je bolest akutna ili hronična, tj. treba utvrditi ste-

pen oštećenja. Dalje, treba utvrditi da li su i u kojoj meri poremećene metaboličke funkcije jetre kako bi se postavila dijagnoza, uzevši u obzir i moguće hepatotoksično delovanje raznih lekova. Nakon postavljanja dijagnoze, za praćenje toka bolesti važno je odlučiti kojom će se laboratorijskom analizom najbolje pratiti tok bolesti i učinak terapije, i koliko često treba analize ponavljati u tu svhu. Pri tome ne treba svaki put ponavljati analize koje su dale rezultate u opsegu referentnih vrednosti.

Potreba za uspostavljanjem visokih, zajedničkih, sveobuhvatnih standarda u rutinskoj medicinskoj praksi, koji se odnose, pre svega, na postupke dijagnostike i lečenja oboljenja jetre, dovela je 2000. god. do stvaranja vodiča za skrining, dijagnozu i monitoring oštećenja jetre (*NACB Laboratory Medicine Guidelines: Laboratory guidelines for screening, diagnosis and monitoring of hepatic injury*) (9–11). Ovaj vodič rezultat je zajedničkog rada AACC i IFCC i predviđen je za kliničare i laboratorije. Kategorije preporuka date su u četiri nivoa (I–IV), a kvalitet i jačina dokaza na kojima su preporuke zasnovane kao A–E. U daljem tekstu biće prikazani biohemijski parametri preporučeni u vodiču, sa preporukama za njihovo izvođenje i primenu u ispitivanju bolesti jetre: bilirubin, alkalna fosfataza, aminotransferaze, gama-glutamil transferaza, albumin, protrombinsko vreme, i amonijak.

Bilirubin

Dnevna produkcija nekonjugovanog bilirubina iznosi 250–350 mg i uglavnom potiče iz raspadnutih eritrocita. Klirens iznosi 5 mg/kg/dnevno, ili oko 400 mg dnevno kod odraslih, i ne menja se značajno u hemolizi. Poluživot nekonjugovanog bilirubina je manji od 5 minuta. UDP-glukuronil transferaza u jetri katalizuje brzu konjugaciju bilirubina u jetri, koji se izlucuje u žuč. Delta bilirubin nastaje u reakciji konjugovanog bilirubina sa albuminom (12), i ima poluživot 17–20 dana (kao albumin), čime se objašnjava produžena žutica kod pacijenata koji se oporavljaju od hepatitisa ili opstrukcije (13). Povećanje konjugovanog bilirubina je visoko specifično za bolesti jetre i žučnih puteva (14) ali se može naći i u sepsi, kompletnoj parenteralnoj ishrani, i posle operativnog zahvata. U oporavku od hepatitisa ili opstrukcije, konjugovani bilirubin se snižava brzo, dok delta-bilirubin opada polako. Gilbertov sindrom, nađen kod 5% populacije, dovodi do blage nekonjugovane hiperbilirubinemije zbog oštećene aktivnosti UDP-glukuronil-transferaze (ukupno bilirubin 68–85 $\mu\text{mol/L}$).

Preporuke (9)

- Za određivanje bilirubina dozvoljena analitička greška je $\leq 20\%$ (ili 6,8 mmol/L) na gornjoj referentnoj granici i $\leq 30\%$ uključujući biološku varijaciju. Ako se prati pacijent sa povišenim koncentracijama bilirubina, od kliničkog značaja je promena od 5%.
- Treba izraditi posebne referentne granice za muškarce, žene i decu.

Alkalna fosfataza

Alkalna fosfataza (ALP) se nalazi u mnogim tkivima, vezana je za ćelijsku membranu i uključena u transport metabolita kroz membranu. Najviše je ima u kostima, jetri, posteljici, mukozni ileusa GIT-a, bubregima. Alkalna fosfataza iz kostiju, jetre i bubrega kodirana je istim genom. Poluživot jetrenih izoenzima je tri dana (15). Gornja referentna granica uslovljena je godinama života i polom. Posle 60. g. života žene imaju šire referentne intervale što se pripisuje nastanku osteoporoze, ali to još nije dokazano. Holestaza stimuliše sintezu ALP u hepatocitima, žučnih soli i drugih površinski aktivnih materija koji olakšavaju oslobađanje ALP iz ćelijskih membrana (16, 17).

Najčešće korišćeni metod za određivanje ukupne ALP je metoda sa p-nitrofenil-fosfatom Bowers, Mc Comb i Kellyja (18). Kompleksirajući agensi citrat, oksalat, ili EDTA vezujući katjone (Zn, Mg), koji su kofaktori neophodni za aktivnost ALP, mogu dati lažno snižene vrednosti. Transfuzija krvi koja sadrži citrat može dovesti do prolaznog smanjenja ALP istim mehanizmom. Elektroforeza i izoelektrofokusanje su najčešće korišćene tehnike za razdvajanje ALP izoenzima iz kostiju, jetre, i bubrega. Koštani izoenzim se može određivati temperaturnom inaktivacijom, imunološkim ili elektroforetskim metodama. Za određivanje koštane ALP preporučuju se enzimске imunometode (19). Zbog dobrog slaganja između povećane aktivnosti ALP iz jetre i povećane aktivnosti drugih kanikularnih enzima (kao GGT), ALP je dobar marker ako se radi o jetrenom izvoru, ali to ne isključuje postojanje bolesti kostiju (20). Za razliku od većine enzima, ALP ima nisku intraindividualnu varijaciju (oko 3%), intalaboratorijsku nepreciznost 5%, ukupnu grešku određivanja 10–15%.

Preporuke (9)

- Ukupna analitička greška u testovima za određivanje ALP treba da bude $\leq 10\text{--}15\%$ na gornjoj referentnoj granici.
- Laboratorije moraju imati posebne referentne intervale za decu (prema polu i godinama starosti), kao i za trudnice. Za odrasle preko 25 godina dovoljan je jedan referentni opseg.
- ALP treba određivati nakon perioda gladovanja, a ako su dobijene blago povišene vrednosti treba ponoviti određivanje posle gladovanja pre bilo kakvih daljih ispitivanja.

Određivanje izoenzima ALP i drugih enzima (GGT) treba raditi samo ako povećana ALP aktivnost nije očekivana iz kliničkih i drugih laboratorijskih ispitivanja.

ALP ima veliku dijagnostičku vrednost u bolestima kostiju, jetre i žučnih puteva, posebno za diferencijalnu dijagnostiku tih bolesti. Holestaza uvek izaziva povišenje ALP u serumu (holecistitis, holangitis, ciroza, hepatitis), dok se kod hepatocelularnih bolesti to često ne dešava. U opstruktivnom ikterusu aktivnost ALP u serumu je obično tri puta viša od gornje refe-

rentne granice, dok je kod virusnog hepatitisa samo blago povišena, ponekad normalna. Visoke vrednosti se nalaze i kod zloćudnih tumora jetre, a posebno kod metastaza u jetri. ALP ima odlike tumorskog markera kod bolesti kostiju, što je u vezi sa aktivnošću osteoblasta. Izolovano povišena ALP (ostale jetrene analize normalne) nalaze se u granulomatozi ili žarišnim bolestima jetre (apscesi, tumorske infiltracije ili parcijalna opstrukcija žučnog kanala).

Aminotransferaze

AST i ALT se nalaze u velikom broju tkiva organizma. AST se nalazi primarno u srcu, jetri, skeletnim mišićima, i bubrezima, dok se ALT nalazi primarno u jetri i bubrezima, a manje u srcu i mišićima (21–23). ALT je citoplazmatski enzim, dok AST ima citoplazmatski i mitohondrijalni izoenzim. Poluživot ukupnog AST u cirkulaciji je 12–22 sata, za ALT 37–57 sati (24). Poluživot mitohondrijalnog AST je oko 87 h. Zbog različitog poluživota ALT i AST, najnovija preporuka je da se za procenu bolesti jetre dovoljno određivati samo AST. Zbog kraćeg poluživota od 12–22 h, AST je analiza izbora za otkrivanje nove bolesti jetre kod već dijagnostikovanih bolesnika. Kod odraslih, aktivnosti AST i ALT su značajno više kod muškaraca u odnosu na žene i menjaju se sa godinama. Takođe, AST pokazuje niže vrednosti od ALT do 60. godine života, kada se vrednosti izjednačavaju (25). Oko polovine laboratorija ima referentne intervale različite za muškarce i žene, dok manji broj laboratorija ima vrednosti prilagođene godinama života. S obzirom da referentne granice malo variraju između 25 i 60 god života, nije ih potrebno koristiti za ovu populaciju a njoj pripada najveći broj pacijenata sa hroničnim oštećenjem jetre. Posebne referentne vrednosti treba napraviti za decu i starije, što zahteva dovoljan broj zdravih osoba.

AST i ALT se određuju kinetičkom metodom (26) i obe zahtevaju piridoksal-5-fosfat (P-5'-P), i njegov nedostatak ima veći uticaj na AST. Kod bubrenih oboljenja aktivnosti AST i ALT su značajno snižene, zbog smanjene količine slobodnog P-5'-P (27). Gornja referentna granica za ALT se povećava od detinjstva do 40. g. života, sa većim povećanjem kod muškaraca (gornja referentna granica za 30% je veća kod muškarca od 40 g. u odnosu na muškarca od 25 g). Posle 40. g života vrednost gornje referentne granice se snižava i to više kod muškaraca u odnosu na žene (28). Gornja referentna granica za AST se povećava od detinjstva do rane mladosti, a zatim se relativno malo menja do 60 g. života. Gornja referentna granica za AST je 25–30% viša kod muškaraca u odnosu na žene (osim detinjstva i preko 60 g. života).

ALT pokazuje cirkadijalni ritam od 45% (najviše popodne, najniže uveče) i biološku varijaciju iz dana u dan 10–30%, dok AST ima biološku varijaciju 5–10%. Više studija je pokazalo da oboleli od hroničnog HCV hepatitisa pokazuju intraindividualni CV do 39%. Iako najveći deo pacijenata ima ovakve fluktuacije u aktiv-

nosti enzima, kod oko jedne trećine pacijenata ALT se manje menja i ima CV do 23%. Zato je važno naglasiti, da je od kliničkog značaja da se razgraniči blago povećana aktivnost od normalne aktivnosti ALT, što je od presudne važnosti za tretman pacijenata sa HCV infekcijom (29, 30).

Preporuke (9)

- ALT je najvažniji test u diferencijalnoj dijagnostici akutnih i hroničnih bolesti jetre. Ukupna greška u određivanju ALT iznosi 15–20% i nije adekvatna za kliničku primenu. Preporučuje se da ukupna greška bude $\leq 10\%$ na gornjoj referentnoj granici. Ovo zahteva upotrebu drugih metoda (npr. imunohemijske metode), i kod pacijenata sa hroničnim hepatitisom i na terapiji, obezbedila bi efikasnije praćenje.
- Standardizacija određivanja ALT između metoda i laboratorija je u toku. Dok se standardizacija ne izvede u potpunosti, u prelaznom periodu, predlaže se alternativno rešenje normalizacije rezultata u odnosu na gornju referentnu granicu (npr. 1,5 puta uvećano, 5 puta uvećano).
- AST se određuje sa ukupnom greškom od 15–20%. U hroničnoj infekciji manji broj rezultata AST je abnormalan u odnosu na ALT (33% vs 71%). Retko kad je AST abnormalan (6%) ako je ALT normalan, izuzev u cirozi. Iz tih razloga navedena greška je adekvatna za kliničku primenu iako se preporučuje da se i određivanje AST izvodi sa ukupnom analitičkom greškom $\leq 10\%$ na gornjoj referentnoj granici.
- Laboratorije bi trebalo da izrade posebne gornje referentne granice za odrasle žene i muškarce, decu i odrasle preko 60 godina.
- Povišene vrednosti ALT i/ili AST koje se ne očekuju treba proveriti u ponovljenom određivanju a kod osoba koje vežbaju treba ih ponoviti posle prekida vežbanja. Ove vrednosti su najčešće normalne u ponovljenom testiranju. Tačan period za ponavljanje nije definisan i ostavljen je kliničaru za procenu.

Hepatocelularno oštećenje je najvažniji uzrok povećanog ALT i obično uzrok povećanja AST. Mnogi faktori pored bolesti jetre utiču na aktivnost AST i ALT. Kod bolesti jetre, ALT je obično viši od AST, osim kod alkoholnog hepatitisa. Alkohol povećava mAST u plazmi, za razliku od drugih formi hepatitisa (31). Nedostatak piridoksal-fosfata, nađen kod alkoholičara, smanjuje aktivnost ALT, a istovremeno alkohol indukuje oslobađanje mAST iz ćelija, bez vidljivog oštećenja ćelija (32).

Gama-glutamil transferaza

Gama-glutamil transferaza (GGT) je membranski enzim koji katalizuje prenos glutamil-grupe glutatona kroz ćelijsku membranu u ciklusu razgradnje i sinteze glutatona. Najviše je ima u bubregu, prostati, pankreasu, jetri, epitelu tankog creva i mozgu. Najveći deo aktivnosti GGT u serumu potiče iz jetre. Poluživot GGT je 7–10 dana, koji se povećava do 28 dana u alkoholnoj jetri zbog oštećenog klirensa. Referentne

vrednosti su iste kod muškarca između 25 i 80. god. ali je gornja referentna granica dva puta veća kod osoba afričkog porekla. Kod žene i dece, gornja referentna granica se povećava sa godinama, ali je znatno niža u odnosu na muškarce (33).

Porast aktivnosti GGT u serumu dosta je osetljiv pokazatelj oštećenja jetre. GGT je u akutnom hepatitisu povećana 5–8 puta, dok je u perzistirajućem hroničnom hepatitisu porast umeren. U agresivnom hroničnom hepatitisu i cirozi jetre GGT je visoka, naročito ako su hepatitis i ciroza posledica alkoholizma. Aktivnost GGT u serumu raste i u opstruktivnom ikterusu (više nego u hepatocelularnom), pankreatitisu, steatozi jetre kod alkoholičara (34). Najviše vrednosti GGT nalaze se kod primarne bilijarne ciroze i sklerozirajućeg holangitisa. Uolestazi je karakterističan nalaz istovremenog povećanja GGT, MCV, HDL-cholesterola, Lpx i ALP.

GGT je osetljiviji parametar u odnosu na ALP u opstruktivnim jetrenim bolestima (GGT raste do 12 puta iznad gornje referentne granice kod 93–100% obolelih, ALP tri puta kod 91% iste grupe). GGT je akutnom hepatitisu povećana kod 80–95% pacijenata. Pacijenti sa dijabetesom, hipertireoidizmom, reumatoidnim artritismom i opstruktivnim plućnim bolestima često imaju povećan GGT. Za određivanje GGT najčešće se koristi metoda po Shaw-u (35) a dozvoljena je ukupna greška, zasnovana na biološkoj varijaciji do 20%.

Preporuke (9)

- Dozvoljena ukupna analitička greška $\leq 20\%$ na gornjoj referentnoj granici.
- Za određivanje koristiti jutarnje uzorke nakon gladovanja.
- Preporučuje se jedna gornja referentna granica za muškarce nezavisno od godina, dok za žene i decu treba izraditi posebne referentne granice prema godinama života.
- Zbog male specifičnosti, GGT treba određivati sa specifičnim markerima kao što je određivanje izvora povećane ALP.

Albumin

Albumin se sintetiše u hepatocitima 100–150 mg na dan, i sačinjava 55–65% proteina plazme. Produkcija albumina zavisi od više faktora, uključujući raspoloživost aminokiselina, onkotski pritisak plazme, nivo inhibitornih citokina (naročito IL-6), kao i broja funkcionalnih hepatocita (36). Poluživot albumina u plazmi je 19–21 dan, što znači da njegova koncentracija u serumu ne odražava poremećenu hepatocelularnu funkciju u akutnoj bolesti jetre. Niske koncentracije albumina pri rođenju (28–44 g/L), povećavaju se posle prve nedelje života na 37–50 g/L, da bi do šeste godine dostigle vrednosti odraslih. Ne postoje značajne razlike u referentnim granicama između muškaraca i žena (37). Povišene koncentracije albumina javljaju se zbog hemokon-

centracije izazvane dehidratacijom, povećanim pritiskom u toku venepunkcije, ili zbog stajanja uzorka. Glavni uzroci snižene koncentracije albumina u serumu uključuju gubitak proteina (nefrotski sindrom, opekotine, enteropatija sa gubitkom proteina), katabolička stanja, glikokortikoidi, smanjen unos (malnutricija, dijeta s malo proteina) i bolesti jetre. Koncentracija albumina je retko snižena u akutnom hepatitisu, zbog dugog poluživota, ali u hroničnom hepatitisu se albumin postepeno smanjuje sa progresijom ka cirozi. Albumin zajedno sa ALP i aminotransferazama doprinosi razlikovanju hepatocelularne od holestatske bolesti jetre.

Oko 50% laboratorija za određivanje albumina koristi metode vezivanja boje, bromkrezol-zeleno i bromkrezol-purpurno. Metoda sa bromkrezol-zelenim može dati nešto više vrednosti (38), ali su razlike između metoda male. Metoda sa bromkrezol-purpurnim daje nešto niže vrednosti u bubrežnim bolestima i kod pacijenata sa povećanim δ -bilirubinom, pa se ova metoda ne preporučuje kod žutice. Elektroforeza proteina se ne preporučuje za određivanje albumina zbog toga što daje više vrednosti.

Preporuke (9)

- Za određivanje koncentracije albumina preporučena ukupna greška iznosi $< 10\%$ na donjoj referentnoj granici.
- Određivanje albumina ima klinički značaj u bolestima jetre, pre svega u dijagnozi ciroze i stepena oštećenja jetre.
- Preporučena metoda za određivanje albumina u dijagnostici bolesti jetre je metoda sa bromkrezol-zelenim.

Protrombinsko vreme

PT se može izražavati u sekundama, procentima i INR. Vreme potrebno da plazma koaguliše je u inverznoj korelaciji sa količinom tkivnog faktora prisutnog u reagensu. Da bi se smanjila varijacija u određivanju PT između regenasa sa različitim tkivnim tromboplastinima, uveden je ISI (International Sensitivity Index), pa se rezultati mogu izražavati u INR (International Normalized Ratio). Korišćenjem reagenasa sa nižim ISI povećava se reproducibilnost INR određivanja, pa su reagensi sa niskim ISI (≤ 1) idealni za praćenje OAT (39).

Zbog toga što je uticaj ISI mnogo veći na određivanje PT kod pacijenata na OAT nego kod pacijenata sa bolestima jetre, vrednosti izražene u INR ne reflektuju tačno inhibiciju koagulacije nastalu u bolestima jetre (40, 41). Npr. iz istog uzorka reagens sa nižim ISI daje PT 23,6 s, dok reagens sa visokim ISI daje PT od 20 s, dok u isto vreme za pacijenta na varfarinu INR varira od 2,9 sa visokim ISI do 1,86 sa niskim ISI. Mogući uzrok ove razlike u rezultatima izraženim u INR i sekundama kod pacijenata na OAT i kod bolesti jetre treba tražiti u značajnoj razlici u relativnoj količini prirodnog protrombina prema des- γ -karboksi protrombinu koji je prisutan u oba slučaja. Pacijenti na varfarinu ili sa deficijencijom vitamina K imaju

značajno više vrednosti des- γ -karboksi protrombina i smanjen biološki aktivan protrombin zbog antikoagulantne aktivnosti primenjenog leka, dok pacijenti sa akutnim hepatitisom ili cirozom imaju snižen biološki aktivan protrombin i veoma malo povećanje des- γ -karboksi protrombina zbog smanjene sintetske funkcije jetre (42). U nekim testovima postignuto je da je tkivni tromboplastin inhibiran od strane des- γ -karboksi protrombina (42). Za određivanje najvažnijeg PIVKA prekursora γ -karboksi protrombina može se koristiti imunoodređivanje. PT je relativno neosetljiv na deficijenciju pojedinačnih faktora koagulacije, pa se značajno produženje PT očekuje tek kada se koncentracija faktora snizi na manje od 10% od normale.

U blagoj hepatocelularnoj disfunkciji PT je slab pokazatelj oštećenja ali zato u akutnom oštećenju jetre ima visoku prognostičku vrednost. U akutnom virusnom ili toksičnom hepatitisu PT produženo za više od 5s iznad referentnog intervala rani je pokazatelj fulminantnog zatajavanja jetre. U akutnom ishemijskom i toksičnom hepatitisu PT se produžava za najmanje 3 s, dok je u virusnom i alkoholnom akutnom hepatitisu retko produžen više od 3 s (43). Diferencijalna dijagnoza opstruktivne žutice moguća je određivanjem PT, gde parenteralno davanje vitamina K dovodi do normalizacije PT u toku 24–48 sati. U hroničnom hepatitisu, PT je u referentnim granicama, ali se produžava sa progresijom bolesti u cirozu.

Reagensi sa istim ISI daju različite rezultate na različitim aparatima, ali i za isti model aparata (44), pa se mora raditi lokalna kalibracija sistema aparat-reagens. Kada se koriste reagensi različitih proizvođača sa istim ISI, isti uzorci takođe daju različite INR rezultate. Reproducibilnost rezultata PT u laboratorijama koje koriste isti aparat i isti reagens iznosi do 10% u opsegu patoloških vrednosti, a sa različitim reagensima do 20%. Reproducibilnost se može povećati lokalnom kalibracijom u svakoj laboratoriji za izabrani sistem reagens–aparat kao i upotrebom MNPT (45).

Preporuke (9)

- U bolestima jetre PT treba izražavati u sekundama (ne u INR) i porediti sa srednjom vrednošću populacionog PT (MNPT), jer se tako postiže zadovoljavajuća standardizacija rezultata između laboratorija.
- Iako je postignut veliki pomak u izražavanju rezultata PT kod pacijenata na OAT u INR, za izražavanje rezultata u INR za pacijente sa oboljenjem jetre potrebna je dodatna standardizacija.

Amonijak

Amonijak nastaje u metabolizmu aminokiselina, a zatim se uklanja u procesu sinteze uree u jetri. Prisustvo *Helicobacter pylori* je značajan izvor amonijaka kod pacijenata s cirozom. Visoke koncentracije amonijaka u serumu se nalaze u deficijenciji enzima koji učestvuju u

sintezi uree, Rejovom sindromu, akutnoj i hroničnoj hepatičnoj encefalopatiji. Blago povećane vrednosti NH_3 u plazmi nalaze se kod pacijenata sa hroničnim hepatitisom, zavisno od razvoja bolesti. Rezultati korišćenja NH_3 u praćenju encefalopatije su kontraverzni, u smislu značajnosti korelacije između koncentracije NH_3 i poboljšanja stanja kod encefalopatije. NH_3 povećava uticaj γ -aminobuterne kiseline (GABA) (46) i povećava broj benzodiazepinskih receptora (47), pa se oni zajedno mogu određivati u patogenezi hepatične encefalopatije. NH_3 se određuje u plazmi koja se mora odvojiti od krvnih ćelija u roku od 15 min kod pacijenata sa oboljenjem jetre. Od svih metoda za određivanje NH_3 najviše se koristi enzimaska metoda (48). Reproducibilnost između laboratorija koje koriste isti metod iznosi 10–20% (49).

Preporuke (9)

- Određivanje amonijaka u plazmi se preporučuje kod encefalopatije nepoznate etiologije. Određivanje amonijaka u plazmi za dijagnozu hepatične encefalopatije kod pacijenata sa akutnim ili hroničnim oboljenjem jetre se ne preporučuje u rutinskom protokolu.
- Tačniji rezultati se dobijaju određivanjem NH_3 iz arterijske krvi u odnosu na vensku krv. Plazma se mora odvojiti u roku od 15 min posle uzorkovanja da bi se izbeglo povećanje NH_3 , stajanjem uzorka.

Ostale biohemijske analize kod bolesti jetre

Među enzimima čije bi određivanje aktivnosti moglo da zameni ALP, GGT i aminotransferaze spadaju 5'-nukleotidaza (5'NT) i α -glutation-S-transferaza (GST- α) (3, 5). Aktivnost 5'NT u serumu se povećava u bolestima hepatobilijarnog trakta, pa zbog svoje specifičnosti za jetrene bolesti ima određenu prednost u odnosu na ALP jer se ne povećava u koštanim bolestima. Povećana aktivnost 5'NT kod holeciste, holangitisa, ciroze, tumora jetre ili metastaza jetre, kao i opstrukcije izazvane žučnim kamencima zadržava se duže nego porast ALP. Određivanje 5'NT može biti od koristi kod anikteričnih bolesnika, ali to ne omogućava razlikovanje opstrukcije od hepatocelularne bolesti. U bilijarnij obstrukciji 5'NT je povećana 2–6 puta. Međutim, sve dok tehnički problemi vezani za analitiku 5'NT ne budu rešeni, 5'NT ne može zameniti ALP u rutinskom biohemijskom profilu jetre. GST- α je najosetljiviji pokazatelj hepatocelularnog oštećenja i alternativa je određivanju aminotransferaza. GST- α je citoplazmatski enzim, čija je najveća aktivnost nađena u jetri, adrenalnoj žlezdi, testisima i bubregu. Poluživot GST- α u krvi je 90 minuta pa je zato osetljiv marker jetrenog oštećenja. Određivanje aktivnosti GST- α od najvećeg je značaja u praćenju funkcije hepatocita nakon transplantacije jetre i oštećenja jetre izazvane lekovima, jer se aktivnost smanjuje mnogo brže od ALT i AST. GST- α se može određivati ELISA metodom ali ne u rutinskoj kliničkoj praksi.

Pored albumina u bolestima jetre se iz grupe proteina mogu određivati: imunoglobulini (IgA, IgG, IgM), cerulopazmin, α_1 -antitripsin, transferin, feritin, ugljenohidratom-deficijentni transferin.

U grupu ostalih testova za ispitivanje jetre spadaju parametri specifični za pojedine bolesti. Ovi testovi se mogu podeliti u dve grupe: testovi fibroze jetre i kvantitativni funkcionalni testovi. Testovi fibroze jetre se koriste u praćenju progresije hroničnih bolesti jetre i optimizacije primenjene terapije. Među velikim brojem specifičnih biomarkera jedini marker koji ima rutinsku aplikaciju je amnoterminalni prokolagen tip III peptid (PIIINP), koji ima najveću primenu u praćenju pacijentata na kontinuiranoj terapiji metotreksatom. Koncentracija PIIINP u plazmi pre reflektuje stepen fibrogeneze nego apsolutni stepen zahvaćenosti tkiva jetre fibrozom. U ovu grupu testova spadaju prolil-hidroksilaza, laminin, fibronektin, tip 7S kolagen.

Kvantitativni funkcionalni testovi za ispitivanje aktivnosti hepatocita zasnovani su na sposobnosti jetre da očiste organizam od egzogenih sastojaka unetih u organizam. Međutim, dinamički testovi, danas se retko koriste u odnosu na druge testove jer zahtevaju specijalizovane tehnike koje se izvode na odeljenjima za ispitivanje jetre (50). Dinamički testovi su analogni klirens testovima za ispitivanje funkcije bubrega gde se određujući supstance koje se ekskretuju ili metabolizuju u jetri, meri stepen njihove eliminacije iz krvi ili količina nastalog metabolita. To su testovi: ^{14}C -aminopirin disajni test, test citohrom P450-zavisne demetilacije, i kapacitet eliminacije galaktoze (preko fosforilacije galaktoze). Ovi testovi su mnogo osetljiviji od konvencionalnih testova, ali su vremenski-zavisni, pa imaju ograničenja u specijalnim situacijama (npr. monitoring novih terapijskih postupaka, procena prognoze bolesti). U grupu najjednostavnijih kvantitativnih testova jetrene funkcije novije generacije, koji je koncipiran tako da je potreban samo jedan uzorak krvi, je merenje nastanka monoetilglicineksilidida (*eng.* monoethylglycineylidide, MEGX) posle administracije lignokaina u bolusu. Nažalost, opseg referentnih vrednosti je dosta širok, pa su ipak neophodna serijska određivanja da bi rezultati imali klinički značaj.

Koncentracija žučnih kiselina je povećana u plazmi kod jetrenih bolesti, pa je određivanje istih visoko specifičan, ali ništa više osetljiv test u odnosu na konvencionalne testove. Određivanje konjugata bilirubina u plazmi predstavlja osetljiv test jetrene funkcije, ali je tehnički zahtevan. U ovu grupu testova za ispitivanje hepatocelularne funkcije spada indeks sadržaja ketona (*eng.* arterial ketone body ratio, AKBR) koji pokazuje odnos acetoacetata i 3-hidroksibutirata u arterijskoj krvi. AKBR direktno odražava stanje metabolizma masnih kiselina preko funkcije mitohondrija hepatocita u redoks stanju, i marker je loše prognoze nakon fulminantnog hepatitisa (51–53).

Praktična primena biohemijskih parametara u ispitivanju bolesti jetre

U kliničkoj praksi u ispitivanju funkcije jetre prikazani parametri se koriste kao panel testova za procenu funkcije jetre jer se tako dobija više informacija o oboljenju u odnosu na korišćenje pojedinačnih testova.

Biohemijski testovi u ispitivanju hepatocelularnih i holestatskih bolesti jetre

Glavni uzrok hepatocelularnog oštećenja su stanja koja su praćena inflamacijom: virusni, autoimuni ili lekovima izazvan hepatitis. Holestaza može biti intra- ili ekstrahepatična i praćena je nagomilavanjem supstanci sintetisanih u žučnoj kesi u plazmi, pri čemu u ranim stadijumima bolesti ne mora postojati hiperbilirubinemija. Ostale biohemijske karakteristike su: bilirubinurija (čak i u odsustvu žutice), povećana aktivnost ALP i GGt u većem stepenu u odnosu na aminotransferaze. Koncentracije holesterola, triglicerida i žučnih kiselina mogu takođe biti značajno povećane. Za razliku od holestaze, kod hepatocelularnih bolesti, aktivnost ami-

Tabela I Preporučene laboratorijske analize za procenu funkcije jetre (5)

Ukupan bilirubin	– ukazuje primarno na ekskrecionu funkciju jetre – koncentraciju treba određivati u ikteričnom serumu pri postavljanju dijagnoze žutice – vrednosti umereno koreliraju sa težinom bolesti
Direktan bilirubin	– u dijagnostici poremećenog metabolizma bilirubina – kod neonatalne žutice
ALP	– značajna u diferencijalnoj dijagnostici ekstrahepatične i intrahepatične holestaze
AST*	– značajna u diferencijalnoj dijagnostici ekstrahepatične i intrahepatične holestaze – visoka osetljivost za hepatocelularne bolesti – u alkoholnoj jetri i teškoj hroničnoj bolesti jetre $\text{AST} > \text{ALT}$
ALT	– dobra specifičnost i osetljivost za hepatocelularne bolesti jetre
Albumin	– snižene vrednosti su pokazatelj smanjene sintetske funkcije jetre
PT	– pokazatelj težine bolesti, tj. prognoze bolesti
* najnovija preporuka je da treba određivati samo AST zbog kraćeg poluzivota (12–22 h), test izbora za otkrivanje nove bolesti jetre kod već dijagnostikovanih bolesnika.	

notransferaza je značajno viša sa normalnim ili blago povećanim vrednostima ALP i GGT (1, 4). Treba imati na umu da patološke vrednosti ovih biohemijskih parametara predstavljaju osnovu za drugi korak u daljem ispitivanju i primenu drugih dijagnostičkih metoda (seroloških testova, ultrazvuk, itd) (3).

Biohemijski testovi u praćenju odgovora na terapiju

U postavljanju dijagnoze bolesti jetre od velikog značaja su biopsija i ultrazvuk, ali one nisu pogodne za češće ponavljanje i ne mogu ukazati na progresiju bolesti, pa zato biohemijski testovi ovde imaju veliku primenu. Određivanje aktivnosti aminotransferaza se može koristiti u praćenju odgovora na imunosupresivnu terapiju kod pacijanata sa autoimunim hepatitisom. Nakon početka terapije vrednosti AST i bilirubina se vraćaju na normalu tokom nekoliko nedelja ako je postignuta remisija. Ukoliko se aktivnost AST povećava više od tri puta od gornjeg referentnog limita došlo je do histološkog i kliničkog recidiva bolesti, što zahteva korekciju terapije. Posle operativnog zahvata u bilijarnoj opstrukciji ili resekciji tumora, vrednosti bilirubina i ALP ukazuju na uspešnost izvedene intervencije i rano otkrivanje komplikacija (3, 53).

Biohemijski testovi kao indikatori u prognozi bolesti

Niska koncentracija albumina, produženo PT i povišen bilirubin ukazuju na lošu prognozu kod pacijenata sa hroničnim oboljenjem jetre. Najprecizniji podaci o prognozi bolesti se dobijaju primenom različitih sistema skorova koji sadrže kliničke, biohemijske i hematološke parametre. Skor sistemi su našli veliku

primenu u akutnom hepatitisu (naročito kod predoziranja paracetamolom), selekciji pacijenata za hitnu transplantaciju jetre, praćenju i prognozi pacijenata sa cirozom jetre. Primenom skor sistema postiže se visoka osetljivost, specifičnost i predikcija prognoze bolesti, što stvara uslove da se primenom ovakvog neinvazivnog metoda, bez primene biopsije kvantifikuje stepen oštećenja jetre i napravi precizna predikcija razvoja bolesti. Najnoviji algoritmi na kojima su godinama radili Poynard i sar. (54–56) omogućili su izradu skor sistema za klasifikaciju stepena fibroze jetre koji može, uz primenu ultrazvuka, zameniti biopsiju u 95% slučajeva.

Abnormalni rezultati biohemijskih testova bez znakova bolesti jetre

Kod više od 50% pacijenata sa hroničnim oštećenjem jetre bolest progredira u cirozu pre nego što se pojave prvi znaci bolesti. Takođe se kod pacijenata sa cirozom bolest bez simptoma može dalje razviti u malignitet. Primenom jetrenog profila biohemijskih testova moguće je pacijente bez simptoma pomenu-tih bolesti otkriti mnogo ranije (3). Ako se dobiju povišena GGT i/ili AST obično se radi o masnoj jetri ili gojaznosti, što je često udruženo sa dijabetesom ili velikim konzumiranjem alkohola. Mnogo ređi uzroci uključuju asimptomatski hronični hepatitis i hemohromatozu. Dalja primena drugih testova znatno može suziti diferencijalnu dijagnozu, ali se za postavljanje konačne dijagnoze mora uraditi biopsija jetre. Takođe, izolovano povećanje ALP može se naći u subkliničkoj bilijarnoj cirozi ili metastazama. Asimptomatska hiperbilirubinemija najčešće je posledica Gilbertovog sindroma, ali se može posumnjati i na hemolitičku anemiju i kongenitalnu sferocitozu.

Tabela II Skor sistemi u predikciji prognoze bolesti jetre (3)

<i>Child-Pugh skor za cirozu</i> Ascit (stepen) Encefalopatija (stepen) Plazma albumin	<i>Mayo Clinic PBC skor</i> Plazma albumin Plazma bilirubin INR Godine života Edem (stepen i odgovor na diuretike)	<i>Mayo Clinic PSC skor</i> Hemoglobin Plazma bilirubin Inflamacija Histologija Godine života
<i>PGA skor za cirozu</i> PT γ -GT ApoA I PGAA skor za cirozu PT γ -GT ApoA I α_2 -makroglobulin	<i>Fibrotest-Acti test (FT-AT) za cirozu</i> ALT Ukupni bilirubin γ -GT α_2 -makroglobulin haptoglobin ApoA I	<i>Kings skor za predikciju loše prognoze kod predoziranja paracetamolom</i> INR (povećan 4. dana nakon predoziranja) Arterijski H^+ > 50 nmol/L INR > 7.0 Kreatinin > 300 mol/L Encefalopatija (stepen III/IV)

Alkohol i jetra

Alkoholna bolest jetre je najčešća bolest jetre u zapadnom svetu. Postoje čvrsti dokazi o povezanosti između potrošnje alkohola i smrtnosti zbog ciroze jetre. Činioci koji utiču na razvoj alkoholne jetrene bolesti jesu genski polimorfizam enzima koji metaboliziraju alkohol, pol, izloženost toksinima i hepatotoksičnim lekovima, imunološki faktori, itd. Bolest se razvija kroz nekoliko histološki definisanih faza: od normalne jetre preko steatoze (masna metaforfoza), steatohepatitis (alkoholni hepatitis) do ciroze, u kojoj dominira fibroza. Osim alkoholnog steatohepatitisa, postoji i nealkoholni steatohepatitis (eng. non alcoholic steatohepatitis, NASH), čija dijagnoza se postavlja biopsijom jetre nakon isključenja drugih uzroka jetrene bolesti, pre svega alkoholne jetrene bolesti (50–52).

Lekovi i jetra

Jetra zauzima centralno mesto u metabolizmu mnogih lekova, konvertujući ih u polarne metabolite koji se mogu ekskretovati u žuč i urin. Oštećenje jetre lekovima klinički i histološki slično je svim oblicima jetrenih bolesti. Hepatotoksične lezije jetre vezane za lekove variraju zavisno od subkliničke slike, sa blagim poremećajem laboratorijskih analiza do fulminantnog zatajivanja jetre koje zahteva transplantaciju jetre. Procena je da su lekovi uzrok 2–5% žutice kod hospitalizovanih bolesnika, 40% slučajeva hepatitisa posle 50. god. života i oko 25% slučajeva fulminantnog zatajivanja jetre.

Enzimi uključeni u proces detoksikacije smešteni su u glatkom endoplazmatičnom retikulumu hepatocita. Metabolizam lekova se uglavnom može podeliti u dve faze: *fazu 1* (na pr. oksidacija ili demetilacija uz učešće citohroma P450) i *fazu 2* gde se metabolit nastao u fazi 1 konjuguje sa polarnim molekulima (na pr. glukuronskom kiselinom ili glutationom) (50). U slučaju predoziranosti lekom oštećenje jetre se uglavnom može predvideti. U cirkulaciji se tada pojavljuje toksični metabolit nastao u prvoj fazi detoksikacije, ali u količini koja prevazilazi detoksikacioni kapacitet reakcija druge faze, (na pr. predoziranje paracetamolom). Međutim, mnogi lekovi imaju toksično dejstvo na jetru i kada se koriste u terapijskim dozama, i ovaj odgovor (idiosinkratična hepatotoksičnost) je nepredvidiva i nezavisna od doze upotrebljenog leka. Neke idiosinkratične reakcije na lekove (halotan) imaju imunološku osnovu gde vezivanje metabolita za hepatocite provocira imuni odgovor. Neki lekovi dovode do holestaze: ovo može biti idiosinkratični odgovor, kao kod hlorpromazina. Kada se koriste u velikim dozama 17- α alkil-supstituisani steroidi i neki anabolički steroidi, mogu izazvati holestazu bez hepatocelularnog oštećenja. Druga neželjena dejstva lekova na jetru uključuju hepatičnu fibrozu ili cirozu (metotreksat), nastanak granuloma, vaskularnih bolesti i razvoj tumora.

Hematološki testovi u ispitivanju funkcije jetre

Jetra igra centralnu ulogu u održavanju normalne hematopoeze i hemostaze. Koštana srž je primarno odgovorna za produkciju eritrocita, trombocita i granulocita, dok se razgradnja ćelija i metabolizam bilirubina odigrava u jetri (3). Kod fetusa jetra je mesto hematopoeze, a tu ulogu može imati i kod odraslih ako je iz bilo kog razloga funkcija koštane srži ugrožena. Najveći broj faktora koagulacije i inhibitora sintetiše se u jetri, dok se feritin, B₁₂, folna kiselina lageruju u jetri.

Poremećaji hemostaze

Pacijenti sa bolešću jetre su skloni krvarenju zbog poremećaja hemostaze nastale smanjenom sintezom faktora koagulacije u jetri. Određivanje parametara hemostaze zato je od velikog značaja u bolestima jetre, naročito zbog izvođenja invazivne procedure kao što je biopsija. Proces koagulacije kontrolisan je prirodnim inhibitorima (protein C, antitrombin III) i uklanjanjem aktiviranih faktora preko jetre, kao i aktivnošću fibrinolitičkog sistema (plazmin, α_2 -makroglobulin) (3).

Protrombinsko vreme (PT) odražava aktivnost faktora koagulacije spoljašnjeg koagulacionog puta (FII, V, VII i X) i FI (fibrinogen), tj njihovu sposobnost stvaranja fibrina iz fibrinogena pod uticajem trombina. Svi ovi faktori se sintetišu u jetri, a FII, VII i X se aktiviraju vitamin K-zavisnim enzimom, koji katalizuje prenos γ -karboksilne grupe na ostatke glutaminske kiseline, čime ovi faktori ostvaruju biološku aktivnost. Varfarin, antagonist vitamina K, dovodi do antikoagulacije inhibicijom γ -karboksilacije, pretvarajući faktore u biološki neaktivne forme bez sposobnosti da vezuju kalcijum. Pacijenti na terapiji varfarinom ili sa nedostatkom vitamina K, sintetišu normalne količine prekursora koagulacionih faktora, ali u biološki inaktivnoj formi tzv PIVKA (eng. protein induced by vitamin K antagonists). DIK kao hemoragijski sindrom koji može nastati u bolestima jetre praćen je sniženim trombocitima, sniženim fibrinogenom, produženim PT i visokim titrom FDP. Dijagnoza DIK-a kod bolesti jetre je otežana zato što pomenute promene mogu postojati kao prateći pokazatelji osnovnog oboljenja, pa veliki broj pacijenata sa hroničnim oboljenjem jetre ima hronični DIK niskog stepena bez većeg kliničkog značaja.

Anemija i abnormalnosti eritrocita

Sekundarna anemija se javlja kod pacijenata sa bolešću jetre, a njeni uzroci su multifaktorijalni. Mikrocitna anemija se nalazi kod pacijenata koji krvare i tretira se preparatima gvožđa. Krv se najčešće gubi preko GIT-a, a dijagnoza se može postaviti ispitivanjem okultnog krvarenja. Makrocitoza (MCV > 100 fL) se javlja kod ciroze jetre kao idiopatska makrocitoza

alkoholne jetre (preko 60% slučajeva) i megaloblastna anemija zbog deficijencije folata. Idiopatska makrocitoza može biti posledica prisustva abnormalnih lipida u cirkulaciji koji menjaju strukturu eritrocita, ili produženog vremena sazrevanja eritrocita. Koncentracija folne kiseline i B₁₂ u plazmi i eritrocitima je normalna. Makrocitoza može biti posledica primene azotiaprina u tretmanu autoimunog hepatitisa. Kod alkoholičara, međutim, vremenom se razvija megaloblastna anemija praćena deficijencijom folata i hipersegmentacijom neutrofila. Određivanje folata u eritrocitima je mnogo osetljiviji marker od folata u plazmi. Koncentracija B₁₂ je obično normalna ali se može razviti perniciozna anemija. Dugotrajna deficijencija folata može dovesti i do razvoja hipohromne anemije iako koncentracija gvožđa i saturacija transferina može biti normalna ili povišena. Hemolizna anemija može nastati kao komplikacija kod pacijenata sa primarnom bilijarnom cirozom, autoimunim hepatitisom, alkoholnom jetrom. Najveći broj pacijenata sa hroničnom bolešću jetre ima hemolizu malog stepena zanemarljivog kliničkog značaja. Nakon prekida uzimanja alkohola često se razvija retiklocitoza što ne mora ukazivati na razvoj hemolize. Aplastična anemija je retka, ali fatalna komplikacija akutnog virusnog hepatitisa.

Kod pacijenata sa hroničnom bolešću jetre često se javlja hipersplenizam udružen sa pancitopenijom. Mehanizam nastanka pancitopenije, koja je benigna, nije potpuno poznat ali verovatno predstavlja kombinaciju sekvestracije krvnih ćelija, povećanog volumena plazme i hemolize. Trombociti su često ispod $50 \times 10^9/L$ što predstavlja rizik za nastanak spontanog krvarenja. Veliki rizik od nastanka bakterijske infekcije kod pacijenata sa hroničnom bolešću jetre, pre je u vezi sa defektom u opsonizaciji nego sa brojem granulocita. U akutnom oštećenju jetre snižena koncentracija komplemenata može biti razlog za veliki broj bakterijskih infekcija a mogu se naći i atipični limfociti.

Viruse jetrene bolesti

Do danas je poznato sedam tzv. hepatotropnih virusa (A, B, C, D, E, G, i TT virus), i neki drugi virusi kao citomegalovirus (CMV), Epstein-Barr (EBV) i herpes simplex virus (HSV), koji mogu inficirati jetru kao deo opšte infekcije (51, 57). *Akutni virusni hepatitis* je najčešća virusna bolest uzrokovana enteralnim prenosom virusa, sa učestalošću 20–25% svih hepatitisa. Svi oblici akutnog hepatitisa imaju sličan patološki tok i moguće ih je dijagnosticirati na temelju izrazitog porasta aminotransferaza i umerenog porasta ALP. Teži oblik bolesti može dovesti do produženog PT, i sniženja albumina u serumu. Prvi laboratorijski nalaz koji ukazuje na akutni hepatitis jesu povišene AST i ALT. Porast aktivnosti aminotransferaza počinje u periodu kasne inkubacije i obično dostiže maksimum u vreme kada se već pojavi žutica.

Ne postoji ustanovljena aktivnost AST i ALT kao granica odlučivanja u dijagnostici akutnog hepatitisa (maksimalna aktivnost može biti 3–100 puta veća od gornjeg referentne granice). Ipak se aktivnost veća od 100 puta retko sreće u akutnom hepatitisu i ima drugu etiologiju. De Ritisov koeficijent AST/ALT je obično manji od 1, a retki su primeri kada je veći od 1 ili 2 (hepatitis koji prati alkoholna ciroza jetre).

Snižavanje aktivnosti aminotransferaza u akutnom hepatitisu je tipično sporo, otprilike 10–12% na dan. AST i ALT ostaju povišene još 22–27 dana, ali se dešava da normalizacija aktivnosti AST i ALT ne ukazuje sigurno na oporavak (kod pacijenata sa akutnim hepatitisom B ili C može se razviti hronični hepatitis iako su aminotransferaze normalne). U slučaju koinfekcije, kada se hepatitis B i hepatitis D simultano odvijaju, mogu se javiti dva pika aktivnosti aminotransferaza. Kod većine pacijenata sa akutnim hepatitisom C razvija se hronični hepatitis. Kod ovih pacijenata nivo ALT treba određivati periodično tokom 1–2 godine. Povećanje aktivnosti ALT ukazuje na progresiju u hronični hepatitis C. *Hronični virusni hepatitis* je virusna infekcija i upala koja traje duže od 6 meseci. Dijagnoza zapaljenja postavlja se klasičnim biohemijskim i hematološkim testovima, pri čemu kod fulminantnog oblika dolazi do teške koagulopatije, hipoglikemije, leukocitoze, hiponatrijemije i hipokalijemije, uz znatno povećanje bilirubina i aminotransferaza, koje, u slučaju progresije bolesti, opadaju prema referentnim vrednostima. Virusološkim testovima u serumu moguće je postavljanje specifične etiološke dijagnoze i praćenje toka bolesti. Hronična upala može uzrokovati cirozu jetre i za nju vezane komplikacije.

Serološki markeri bolesti jetre

Do sada prikazani biohemijski testovi ne omogućavaju kliničarima da tačno dijagnostikuju vrstu hepatitisa. Iz tog razloga, sprovode se osetljivi serološki testovi za otkrivanje i kvantifikaciju specifičnih antitela. Serološki testovi treba da potvrde dijagnozu, determinišu virusni agens odgovoran za bolest, i omogućе praćenje efekata primenjene terapije. Serološki markeri su takođe obuhvaćeni vodičem za skrining, dijagnozu i monitoring oštećenja jetre (9).

Viruse hepatitisa A

Viruse hepatitisa A (HAV) je jednolančani RNK virus iz grupe *Picornavirus*. Virusni antigen (HAAg) se nalazi u serumu, stolici i jetri samo tokom akutne infekcije. Virusna RNK može se otkriti u serumu PCR metodom, međutim iz ekonomskih razloga najčešće se određuju HAV-antitela u serumu imunohemijskom metodom. Akutnu infekciju karakterišu prisutna IgM-antitela tokom 16–40 nedelja, najviša su u akutnoj fazi i ranoj fazi oporavka, a nestaju 4–6 meseci nakon početka bolesti. U ranoj fazi oporavka pojavljuju se

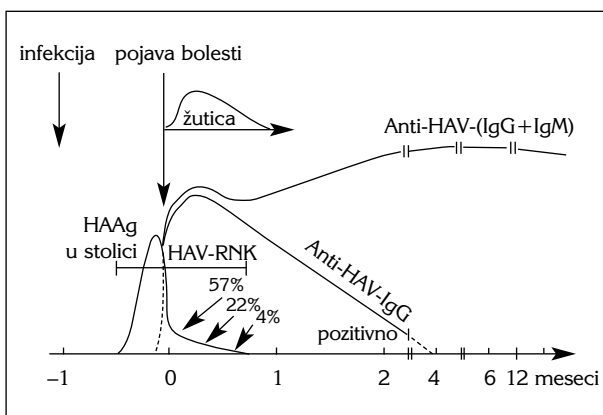
IgG antitela, koja su prisutna obično celog života (anti-HAV). Dakle, IGM-antitela označavaju akutnu infekciju, dok IgG-antitela ukazuju samo na izloženost HAV i razvoj imuniteta nakon preležane bolesti (51, 57). Upotrebom kvantitativnih anti-HAV testova moguće je napraviti razliku između ograničenog imuniteta prateći pasivnu imunizaciju i produženog ili doživotnog imuniteta posle hepatitis A imunizacije ili posle prirodne hepatitis A infekcije. Pošto se pasivno stečeni titar anti-HAV vremenom smanjuje (poluvremena eliminacije je tri nedelje) naredna anti-HAV kvantitativna ispitivanja, posle 2–3 meseca, treba da potvrde prisustvo pasivnog ili aktivnog imuniteta. U slučaju pasivnog imuniteta titar anti-HAV opada ispod granice detekcije, dok u slučaju aktivnog imuniteta koncentracija anti-HAV ostaje nepromenjena.

Druga indikacija za kvantitativan anti-HAV test je utvrđivanje imuniteta posle imunizacije. Na osnovu iskustva sa davanjem imunoglobulina zna se da koncentracije manje od 10 IU/L znače zaštitu od infekcije. Međutim, pošto se pogrešni rezultati mogu javiti oko granične vrednosti, jedino koncentracije veće od 40 IU/L jesu dokaz postojanja imuniteta. Posle kompletne hepatitis A imunizacije anti-HAV se obično detektuje u rasponu 1000–6000 IU/L. Kod anti-HAV pozitivnih pojedinaca koji su se oporavili od infekcije koncentracija anti-HAV dostiže 5000 IU/L (58, 59).

Zahvaljujući visokoj analitičkoj osetljivosti RT-PCR test je mnogo osetljiviji nego detekcija HAAg (moguće je detektovati približno 100 genom ekvivalenta po mL) i pogodan je za dijagnozu hepatitisa A sa produženim tokom.

Preporuke (9)

- Pozitivan anti-HAV IgM nalaz potvrđuje dijagnozu akutne HAV infekcije.
- Pozitivan total anti-HAV nalaz koristiti se za određivanje imunog statusa na HAV.



Slika 1 Krivulja promena seroloških markera u hepatitisu A (51)

Virus hepatitisa B

Virus hepatitisa B (HBV) je rasprostranjen širom sveta i ubraja se u famijiju Hepadna virusa. Prenosnje i imuni odgovor na hepatitis B infekciju se razlikuje u zavisnosti od uzrasta u vreme inficiranja (npr. kod osoba koje su inficirane kao bebe, vrlo često se razvija hronična infekcija). Visokorizične grupe za hepatitis B infekciju su zdravstveno osoblje, lica koja su primila transfuziju krvi, pacijenti i osoblje u odeljenjima za hemodijalizu, novorođenčad čije su majke zaražene hepatitisom, intravenski narkomani, promiskuitetene osobe (51, 59).

Infektivne čestice virusa sastavljene su od jezgra koji sadrži dvostruke lance DNK i DNK polimeraze, koji se repliciraju unutar jezgra inficiranih hepatocita, i spoljnjeg površinskog omotača. Virusna čestica sadrži antigene HBsAg, HBcAg, i HBeAg.

HBsAg je antigen na površinskom omotaču virusa i njegova prisutnost u serumu prvi je znak akutne infekcije virusom B. HBsAg se pojavljuje tokom inkubacije, obično i do 6 nedelja pre pojave kliničkih i bihemijskih znakova bolesti, i nestaje tokom razdoblja oporavka. Odgovarajuća antitela, anti-HBs, pojavljuju se nedeljama ili mesecima posle, nakon dijagnostičkog oporavka i obično su prisutna celi život, upućuju na prošlu HBV infekciju i relativni imunitet. Kod više od 10% bolesnika HBsAg perzistira i nakon akutne infekcije, a anti-HBs se ne razvija. Takvi bolesnici obično razvijaju hronični hepatitis ili postaju asimptomatski nosioci virusa.

Antigen jezgra (HBcAg) je antigen na unutrašnjoj strani jezgra virusa. Može se otkriti u inficiranim ćelijama jetre, dok se u serumu otkriva samo specijalnim tehnikama. Antitela na jezgru (anti HBc) uglavnom se pojavljuju na početku kliničke manifestacije bolesti, a sa manjim titrom mogu se naći i tokom celog života. Njihova prisutnost zajedno sa anti-HBs nema posebno značenje, osim dokaza za prethodnu infekciju. Anti-HBc se mogu naći i kod hroničnih nosioca HBsAg koji nemaju povećani anti-HBs odgovor. U akutnoj infekciji dominiraju IgM anti-HBc dok u hroničnoj infekciji anti-HBc uglavnom klase IgG.

Antigen e (HBeAg) poreklom je iz jezgra virusa i nalazi se samo u HBsAg pozitivnom serumu. Prisustvo HBeAg je znak aktivnijeg umnožavanja virusa i ukazuje na povećanu infektivnost krvi i veću verovatnoću progresije u hronični hepatitis. Nasuprot tome, prisustvo odgovarajućeg antitela (anti-HBe) ukazuje na manju infektivnost i uglavnom dobar ishod bolesti (60, 61).

HBsAg i markeri virusne replikacije (HBeAg i HBV-DNK) mogu se otkriti u serumu 6 nedelja nakon inokulacije, dakle, pre bihemijskih i kliničkih simptoma, i ostaju pozitivni i u toku rane kliničke faze bolesti. IgM anti-HBc postaje pozitivan sa pojavom kliničkih simptoma i može perzistirati mesecima, a obično se snižava ispod granice detekcije nakon 6 meseci, a

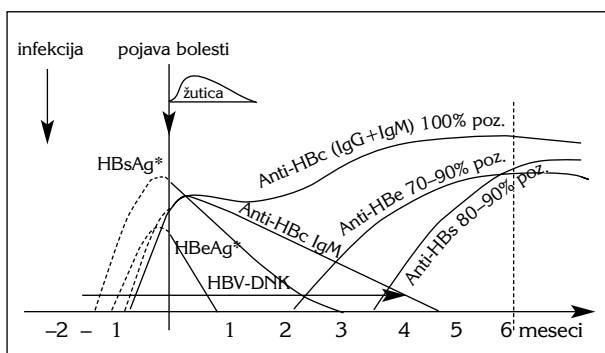
ponovo postaje merljiv u slučaju reaktivacije infekcije. IgG anti-HBc ostaje trajno pozitivan. Anti-HBs se pojavljuje uz nestanak HBsAg i znak je rezolucije bolesti (58). Kombinacijom i pravovremenim izborom seroloških markera, tzv. »serološki prozor«, tj. period karakterističan po negativnom HBsAg i anti-HBs uz pozitivan IgM anti-HBc, retko se nalazi. Dijagnoza hepatitisa B infekcije se pored detekcije HBsAg i HBeAg zasniva na detekciji antitela: anti-HBs, anti-HBc i anti-HBe. Prisustvo anti-HBs označava imunost na infekciju. Osim toga, direktna kvantitativna detekcija HBV-DNK primenom hibridizacije i PCR metode sve više dobija na značaju.

U toku inkubacionog perioda HBV-DNK, HBsAg, HBeAg i IgM anti-HBc postaju pozitivni jedan za drugim u serumu. U fazi razvoja bolesti, posle srednjeg perioda od 70 dana (40–60) HBsAg dostiže svoj maksimum. U samo 5% slučajeva je zabeleženo odsustvo HBsAg u fazi razvoja bolesti. U takvoj situaciji akutna bolest se može dijagnostikovati jedino detekovanjem visokog titra IgM anti-HBc. 5–10% odraslih i 90% novorođenčadi nisu sposobni da eliminišu virus posle infekcije i postaju hronični nosioci HBsAg. Kod jedne trećine ovih nosioca HBsAg u periodu od 10–30 godina hronični hepatitis može preći u cirozu jetre (61).

Markeri oporavka od akutnog hepatitisa B javljaju se sledećim redom:

- značajan pad koncentracije HBsAg u toku 3 nedelje posle faze razvoja bolesti,
- nestanak HBeAg za 12 meseci,
- nestanak HBsAg u toku 3–4 meseca,
- prisustvo HBsAg duže od 6 meseci ukazuje na razvoj hroničnog statusa HBsAg nosioca, i
- pojava anti-HBs.

Zdravstveno osoblje često oboljeva od hepatitisa, ima češći pozitivan nalaz na HBsAg ili anti-HBs, nego osobe koje profesionalno nisu u kontaktu sa pacijentima ili produktima krvi. Česta je pojava da su



Slika 2 Promene specifičnih seroloških markera za vreme i u toku oporavka od hepatitisa B (51).

* Oko 5% bolesnika je HBsAg negativno; 5–10% bolesnika postaju nosioci HBsAg; 80–90% bolesnika je HbeAg pozitivno pri pojavi bolesti.

pacijenti i osoblje na odeljenjima za hemodijalizu inficirani hepatitisom B, a takođe su infekciji izloženi i sami članovi porodice. Oko 50% pacijenata na dijalizi, koji su oboleli od hepatitisa B, postali su hronični nosioci HBsAg u poređenju sa 2% među osobljem, što ukazuje na imune razlike u reakciji domaćina. Učestalost hepatitisa B kod davalaca krvi je približno 1%. Iz tog razloga, uvedeno je obavezno ispitivanje davalaca krvi na HBsAg, a komercijalni davaoci zamjenjeni dobrovoljnim. Osobe koje su prebolele hepatitis ne bi trebalo da budu davaoci krvi. Imunoglobulini i albumin su produkti krvi kojima se ne prenosi hepatitis B.

Preporuke (9)

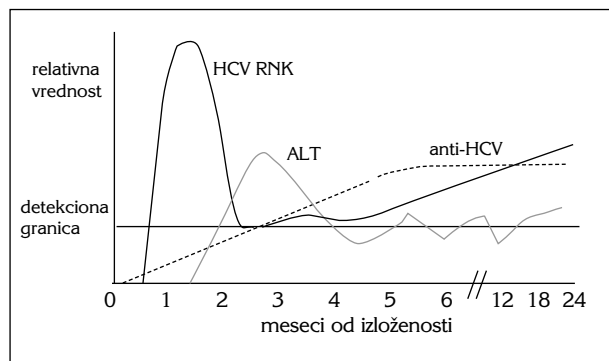
- Za diferencijalnu dijagnozu aktuelne ili prošle HBV infekcije uraditi testove na HBsAg, anti-HBs i anti-HBc. Kada se sumnja na akutnu HBV infekciju korisno je uraditi test na anti-HBc IgM.
- Za dijagnozu akutne hepatitisa B infekcije ili za rutinsku procenu HBV statusa nije neophodno raditi testove na HBeAg i anti-HBe.
- Kod pacijenata sa kontradiktornim rezultatima ponoviti izvođenje testa. Ukoliko su rezultati i dalje kontradiktorni treba uraditi histološka i gastroenterološka ispitivanja.

Virus hepatitisa C

Virus hepatitisa C (HCV) najčešći je do sada poznati uzročnik posttransfuzionih hepatitisa, ranije poznatih kao non-A, non-B. To su specifični jednolančani Flavi virusima slični RNK virusi čiji se multipli HCV-subtipovi pojavljuju u do sada 6 otkrivenih genotipova. Genotipovi (dosada otkriveno 6) i preko 50 subtipova okarakterisani su različitom geografskom distribucijom, i imaju važnu ulogu u virulenciji HCV (62). Problem u pronalaženju vakcine protiv HCV je njegova osobina da vremenom veoma lako mutira i prelazi u drugi oblik. Genotipovi se razlikuju u odnosu na:

- progresiju bolesti (1b ima veću prevalencu na cirozu u odnosu na 2);
- stepen viralne replikacije (koncentracija 3a manja je od 1b); i
- odgovor na interferonsku terapiju (genotip 1 mnogo manje reaguje na terapiju u odnosu na 2 i 3).

HCV se prenosi parenteralnim putem (krv, krvni produkti). Visokorizične grupe za hepatitis C su narkomani, lica koja su primila transfuziju krvi, osoblje koje radi sa krvi i krvnim produktima, rođeni sa hepatitisom C (dokazano je da se HCV prenosi vertikalno sa majke na dete), seks sa inficiranim partnerima (59). Većina slučajeva hepatitisa C ima subkliničku sliku, čak i u akutnoj fazi. Mnogo veći broj inficiranih hepatitisom C prelazi u hronični hepatitis (75–85%) u odnosu na hepatitis B, a 1/3 razvija cirozu jetre i karcinom. 15–20% inficiranih pojedinaca ima normalne vrednosti



Slika 3 Serološki profil virusnih markera kod bolesnika zaraženih virusom hepatitisa C (11)

Tabela III Skor sistemi u predikciji prognoze bolesti jetre (3)

Vreme od izlaganja infekciji	Procenat pacijenata pozitivnih na anti-HCV
15 nedelja	80
5 meseci	> 90
6 meseci	> 97

ALT. Hronični hepatitis je inače poznat po jako izraženim fluktuacijama u vrednostima AST i ALT.

Danas se HCV-antitela (2–3 meseca nakon infekcije) mogu odrediti trećom generacijom seroloških testova (EIA-3) koji primenjuju rekombinantne antigene i sintetičke peptide iz nukleokapsida virusa. Međutim, testiranjem samo antitelima može se potceniti prevalenca infekcije HCV-om, naročito kod imunokompromitovanih bolesnika (HIV pozitivni, transplantirani, pacijenti na dijalizi) (63). Kod tih pacijenata treba odrediti virusnu RNK pomoću kvalitativnog ili kvantitativnog PCR (62). Odsustvo detekcije antitela ne isključuje sa sigurnošću ni akutnu ni hroničnu infekciju. Anti-HCV se često ne mogu detektovati 9–12 meseci nakon infekcije, što dovodi do lažno negativnih rezultata. Lažno negativni rezultati mogu se dobiti i zbog degradacije osetljive HCV-RNK dužim stajanjem seruma na sobnoj temperaturi (polovina HCV-RNK propada u toku 24 časa).

Pozitivan anti-HCV test nije siguran dokaz ni akutne ni hronične HCV infekcije. Čak i testovi druge i treće generacije često daju nespecifične pozitivne rezultate. Lažno pozitivni rezultati mogu se javiti u slučaju povećane koncentracije IgG antitela i autoantitela, čestim odmrzavanjem i otapanjem uzoraka seruma. Pozitivan anti-HCV test se može smatrati pozitivnim tek ukoliko je potvrđen Western blot analizom. Dalje, detekcijom anti-HCV ne može se napraviti diferencijalna dijagnoza između akutne i hronične sa jedne strane i prošle infekcije sa druge strane. U ovom slučaju potrebna je dodatna detekcija HCV-RNK korišćenjem PCR metode za potvrdu akutne ili hronične, ili isključenje prošle infekcije (64). Detekcija anti-HCV IgM klase je moguća kod akutne i u 80% slučajeva hronične infekcije što otežava serološku diferencijaciju. Hronična HCV infekcija prisutna je ukoliko se markeri mogu detektovati duže od godinu dana.

Preporuke (9)

- Kod visokorizičnih pacijenata screening testovi za anti-HCV (EIA) su dovoljni za dijagnozu aktuelne ili prošle HCV infekcije. Izvođenje dodatnih testova nije potrebno. Ako je potrebna potvrda aktivne infekcije treba uraditi test na HCV-RNK.
- Dodatne anti-HCV testove treba raditi kod populacije malog rizika na hepatitis C ili kao potvrdu prošle HCV infekcije kod pacijenata koji su HCV-RNK negativni.
- Metode za detekciju HCV-RNK koriste standard koji predlaže Svetska Zdravstvena Organizacija (WHO).
- Uzorke za detekciju HCV-RNK treba uzorkovati kao EDTA ili citriranu plazmu i odmah centrifugirati kako bi se izbegli pogrešno niski rezultati.

U kliničkoj praksi od važnosti je ispitivanje virusa hepatitisa D, E, G. Ako su serološki testovi na hepatitis A, B, C, D negativni a klinička slika pokazuje akutni virusni hepatitis, treba razmotriti druge uzroke takvog stanja: Epstein-Barr virus, citomegalovirus, herpes virus, ishemijsko oštećenje jetre, lekovima izazvan hepatitis, akutizaciju hroničnog hepatitisa, akutni holangitis. Kada se postavi dijagnoza akutnog virusnog hepatitisa, potrebno je prati tok bolesti povremenim određivanjem biohemijskih i seroloških parametara.

BIOCHEMICAL AND SEROLOGICAL MARKERS FOR DETECTION AND FOLLOW-UP OF LIVER DISEASES

Violeta Dopsaj^{1, 2}, Zorica Šumarac¹

¹*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia,*

²*Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia & Montenegro*

Summary: Diagnosis of liver diseases and establishment of its functional status are based on combination of biochemical analyses and different diagnostic non-invasive and invasive procedures. Since liver diseases, regardless of the etiology, have similar course, the site of biochemical tests is currently more significant for early detection and follow-up of disease, therapeutically effects and prognosis than for differential diagnosis. The need for specifying high, mutual, comprehensive standards for their implementation in regular medical practice, referring to procedures of diagnostic and treatment of liver diseases brought about, in 2000, the creation of guide for screening, diagnosis and monitoring of liver diseases, according to guidelines already issued by AACC and IFCC. Categories of recommendations were classified in four levels (I–IV), while quality and strength of evidence serving as basis of recommendations were defined as A–E. Alanine aminotransferase is the most important biochemical test for differentiation of acute and chronic hepatitis. Recommended total determination error of ALT $\leq 10\%$ at the upper referential limit would enable more efficient clinical monitoring of patients with chronic hepatitis. It is necessary to make interlaboratory harmonization of ALT results and formation of specific referential limits of enzymes in children, and of AST, ALT, γ -GT and total bilirubin concentration in adults according to gender. In liver diseases, the results of prothrombin time should be expressed in seconds and not only in INR, until the best correlation of expression of PT and functional liver impairment is established. Serological markers are specific tests in differential diagnosis of viral, acute and chronic, hepatitis and follow-up of recovery from hepatitis B and C.

Key words: liver diseases, guide, AST, ALT, PT, serological markers, hepatitis

Literatura

- John E Sherwin. Liver function. In: Lawrence A Kaplan, Amadeo J Pesce, Steven C Kazmierczak. Clinical chemistry: theory, analysis, correlation. Mosby, Inc., 4th ed, 2003: 492–507.
- Fody PE. Liver function. In: Bishop LM, Fody PE, Schoeff L. Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, London, New York, 2005; 475–92.
- Ian McFarlane, Adrian Bomford, Roy Sherwood. Liver disease & Laboratory Medicine. ABV Venture publications 2000, London.
- Ravel R. Liver and biliary tract tests. Clinical Laboratory Medicine. Mosby-Year Book, Inc, 1995; 309–30.
- Čepelak I, Štraus B, Dodig S, Labar B. Bolesti hepatobilijarnoga trakta. Medicinsko-biokemijske smjernice. Medicinska naklada, Zagreb, 2004; 19–47.
- Topić E. Bolesti jetre. U: Topić E, Primorac D, Janković S. Medicinskobiokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Medicinska naklada, Zagreb, 2004; 40–60.
- Black ER. Diagnostic strategies and tests algorithms in liver disease. Clin Chem 1997; 43: 1555–60.
- Goldberg DM, Brown D. Advances in Application of Biochemical Tests to Diseases of Liver and Biliary Tract: their role in diagnosis, prognosis and the elucidation of pathogenesis mechanism. Clin Chem 1987; 20: 127–48.
- Dufour RD, Lott AJ, Nolte SF, Gretch RD, Koff SR, Seeff BL. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: Laboratory Guidelines for Screening, Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury, 2000; 26–48.
- Dufour RD, Lott AJ, Nolte SF, Gretch RD, Koff SR, Seeff BL. Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury. I. Performance Characteristics of Laboratory Tests. Clin Chem 2000; 46 (12): 2027–49.
- Dufour RD, Lott AJ, Nolte SF, Gretch RD, Koff SR, Seeff BL. Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury. II. Recommendations for Use of Laboratory Tests in Screening, Diagnosis, and Monitoring. Clin Chem 2000; 46 (12): 2050–68.
- McDonagh AF, Palma AA, Lauff JJ, et al. Origin of mammalian biliprotein and rearrangement of bilirubin glucuronides in vivo in the rat. J Clin Invest 1984; 74: 763–770.
- Fevry J, Blanckaert N. What can we learn from analysis of serum bilirubin. J Hepatol 1986; 2: 113–21.
- Berk PD, Noyer C. Clinical chemistry and physiology of bilirubin. Sem Liver Dis 1994; 14: 346–55.
- Clubb JS, Neale FC, Posen S. The behavior of infused placental alkaline phosphatase in human subjects. J Lab Clin Med 1965; 66: 493–507.

16. Moss DW. Physicochemical and pathophysiological factors in the release of membrane-bound alkaline phosphatase from cells. *Clin Chim Acta* 1997; 257: 133–40.
17. Schlaeger R, Haux D, Kattermann R. Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase activity in cholestasis: significance of the hepatic bile acid concentration for the leakage of alkaline phosphatase from rat liver. *Enzyme* 1982; 28: 3–13.
18. Bowers GN Jr, McComb RB, Kelley ML. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. *Sel Meth Clin Chem* 1977; 8: 31–9.
19. Gomez B, Ardakani S, Ju J, et al. monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem* 1995; 41: 1551–3.
20. Anciaux ML, Pelletier AG, Attali AG, et al. Prospective study of clinical and biochemical features of symptomatic choledocholithiasis. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 449–53.
21. Price CP, Alberti KGMM. Biochemical Assessment of liver function. In: Wright R, Alberti KGGM, Karran S, et al. *Liver and Biliary disease – Pathophysiology, Diagnosis, Management*. London, WB Saunders, 1979: 381–416.
22. Panteghini M. Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem* 1990; 23: 311–19.
23. Siest G, Henry J, Schiele, et al. Interpretation of Clinical laboratory Tests: Reference values and their biological variation. Foster city 1985, CA: biomedical publications.
24. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry: an update: collated data, 1988–1991. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 916–23.
25. Piton A, Poynard T, Imbert-Bismut F, et al. Factors associated with serum alanine aminotransferase activity in healthy subjects: consequences for the definition of normal values, for selection of blood donors, and for patients with chronic hepatitis C. MULTIVIRC group. *Hepatology* 1998; 27: 1213–9.
26. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1978; 24: 58–73.
27. Vanderlinde RE. Review of pyridoxal phosphate and the transaminases in liver disease. *Ann Clin Lab Sci* 1986; 16: 79–93.
28. Salvaggio A, Periti M, Miano L, et al. Body mass index and liver enzyme activity in serum. *Clin Chem* 1991; 37: 720–3.
29. Lott JA, Tholen DW, Massion CG. Proficiency useful criteria for analytic performance of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1985; 83: 200–5.
30. Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST). *Clinical enzymology: a case-oriented approach*. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1986: 111–38.
31. Nalpas B, Vassaut A, le Guillou A, et al. Serum activity of mitochondrial aspartate aminotransferase: a sensitive marker of alcoholism with or without alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1984; 4: 893–6.
32. Zhou SL, Gordon RE, Bradbury M, et al. Ethanol up-regulates fatty acid uptake and plasma membrane expression and export of mitochondrial aspartate aminotransferase in Hep G-cells. *Hepatology* 1998; 27: 1964–74.
33. Nilssen O, Helge-Forde O, Brenn T. The Tromso study-distribution and population determinants of gamma-glutamyltransferase. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 318–26.
34. Itoh S, Nakajima M. Liver gamma-glutamyl transferase activity in viral liver disease. *Digestion* 1986; 33: 121–5.
35. Shaw LM, Stromme JH, London JL, et al. International Federation of Clinical Chemistry. Scientific Committee, Analytical Section. Expert panel on enzymes. IFCC methods for measurement of enzymes. Part 4. IFCC methods for gamma-glutamyltransferase (gamma-glutamyl)-peptide: amino acid gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.2). *Clin Chim Acta* 1983; 135: 315f–38f.
36. Doumas BT, Peters T. Serum and urine albumin: a progress report on their measurement and clinical significance. *Clin Chim Acta* 1997; 258: 3–20.
37. Dufour DR. Gender related differences in liver function and integrity tests. *Clin Chem* 1998; 44: 137.
38. McGinlay JM, Payne RB. serum albumin by dye-binding: bromocresol green or bromocresol purple? *Ann Clin Biochem* 1988; 25: 417–21.
39. Taberner DA, Poller L, Thomson JM, et al. Effect of international sensitivity index (ISI) of thromboplastins on precision of international normalised ratios (INR). *J Clin Pathol* 1989; 42: 92–6.
40. Kovacs MJ, Wong A, MacKinnon K, et al. Assessment of validity of the INR system for patients with liver impairment. *Thromb Haemost* 1994; 71: 727–30.
41. Robert A, Chazouilleres O. prothrombin time in liver failure: time, ratio, activity percentage, or International normalized ratio? *Hepatology* 1996; 24: 1392–4.
42. Blanchard RA, Furie BC, Jorgensen M, et al. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. *N Engl J Med* 1981; 305: 242–8.
43. O Grady JG, Alexander GJM, Hayllar KM, et al. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 97: 4439–45.
44. Cunningham MTA, Johnson GF, Pannell BJ, et al. The reliability of manufacturer-determined, instrument specific international sensitivity index values for calculating the international normalized ratio. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 128–33.
45. Stevenson KJ, Craig S, Dufty JMK, et al. System ISI calibration: a universally applicable scheme is possible only when coumarin plasma calibrants are used. *Br J Haematol* 1997; 96: 435–41.

46. Jones EA, Basile AS. The involvement of ammonia with the mechanisms that enhance GABA-ergic neurotransmission in hepatic failure. *Adv Exp Med Biol* 1997; 420: 95–111.
47. Norenberg MD, Itzhak Y, Bender AS. The peripheral benzodiazepine receptor and neurosteroids in hepatic encephalopathy. *Adv Exp Med Biol* 1997; 420: 95–111.
48. Huizenga JR, Tangerman A, Gips CH. Determination of blood ammonia in biological fluids. *Ann Clin Biochem* 1994; 31: 529–43.
49. College of American Pathologists. Ammonia. Chemistry Survey Set C-B, 1999. 325 Waukegan Road, Northfield, IL 600093.
50. Marshall J William. The liver. In: *Clinical Chemistry*, Mosby 4th ed, 2000: 77–95.
51. Thomas L. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory results*. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998, 1st ed, Frankfurt/Main.
52. Tolman KG, Rey R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER: *Tietz textbook of Clinical Chemistry*. WB Saunders company 3rd ed, 1999: 1125–77.
53. Tredger JM, Sherwood RA. The liver: new functional, prognostic, and diagnostic tests. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 121–41.
54. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D, Ratzu V, Mercadier A, Benhamou Y, Hainque B. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol*. 2004; 3 (1): 1–12.
55. Poynard T. Alternatives to liver biopsy for assessing liver disease status in patients with hepatitis C. *Clinical Virology and Infectious Disease* 2004: 1–6.
56. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, et al. Biomarkers as non-invasive assessment of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2004; 19: S236–S45.
57. Samir P. Desai, Sana Isa-Prat. *Clinical Guide to Laboratory Medicine*, Lexi-Comp 2002: 639–65.
58. Jacques Wallach. *Interpretation of Diagnostic Test*, Lippincott – Raven 2002: 118–132.
59. Hollinger FB, Dreesman GR. Hepatitis viruses. In: Rose NR, de Mscsrio EC, Folds JD, et al. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 5th ed. Washington DC, American Society for Microbiology, 1997.
60. Chernesky MA, Gretch D, Mushahwar IK, et al. *Cumitech 18A. Laboratory diagnosis of the hepatitis viruses*. Coordinating ed. S Young. Washington DC. American Society for Microbiology, 1998.
61. Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B virus. In: Fields BN, Knipe DM, Hawley PM, et al. *Fields Virology*, 4th ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 2000.
62. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995; 30: 787–93.
63. Pawlotsky JM, Lonjon I, Hezode C, et al. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology* 1998; 27: 1700–2.
64. Lunel F, Cresta P, Vitour D, et al. Comparative evaluation of hepatitis C virus RNA quantitation by branched DNA, NASBA, and Monitor assays. *Hepatology* 1999; 29: 528–35.

Rad primljen: 15. 05. 2005

Prihvaćen za štampu: 25. 05. 2005