

# VYŠETŘENÍ FUNKCE JATER v PEDIATRII (1. část)

**Prof. MUDr. Jaroslav Masopust, DrSc.**

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta, Ústav klinické biochemie a patobiochemie

Postižení funkce jater v dětském věku má podobné důsledky jako u dospělých jedinců; rovněž základní laboratorní testy jsou shodné. Existují však rozdíly ve výskytu některých syndromů, v jejich klinických i laboratorních projevech stejně jako v průběhu, zejména v časném období života. Je to dáno postupným rozvojem řady metabolických funkcí, v kterých mají játra klíčovou úlohu. V článku je referováno o základních, doplňkových a speciálních testech pro vyšetření funkce jater a o jejich význam pro diagnostiku akutních hepatopatií.

**Klíčová slova:** játra, funkční vývoj, akutní hepatopatie, děti

EVALUATION OF LIVER FUNCTION IN PEDIATRICS (Part One)

**Key words:** liver, functional development, liver tests, acute hepatopathias, children

## 1. Úvod

Základ jater a biliárního systému je možno rozpoznat už u 4 týdenního lidského embrya jako duodenální divertikulum; jaterní lalůčky se objevují v 6. týdnu gestace. Fetální játra v 9. týdnu těhotenství tvoří dokonce až 10 % hmotnosti celého plodu (při narození je to 5 % a v dospělosti pouze 2 %). Žlučodod a žlučník jsou plně rekanalizovány v 7. až 8. týdnu, sekrece žluči byla rozpoznána ve 12. týdnu. V časných fázích vývoje mají játra především funkci krvetvornou; hematopoetické buňky převažují ve svém počtu fetální hepatocyty (hepatoblasty), prakticky vymizí v 2. měsíci života zdravého kojence. Mnohočetná metabolická funkce jater není před narozením plně rozvinuta; fetální játra jsou zaměřena především na tvorbu proteinů nutných pro vývoj plodu, řadu funkcí zajišťují játra matky. V době kolem porodu je činnost jater zaměřena hlavně na produkci a ukládání nezbytných nutrientů, na přípravu exkrece žluče a hned po narození na adaptaci metabolických pochodů v extrauterinním prostředí syntézou a aktivací potřebných enzymových systémů.

Játra mají centrální úlohu v energetickém a intermediárním metabolismu. Kromě toho vykonávají významnou činnost inaktivační exkreční a detoxikační (biotransformace). Významná je proteosyntéza plazmatických bílkovin. Částečně se podílejí též na trávení a dále na homeostáze vnitřního prostředí. Jaterní retikuloendotelový systém plní svou funkci v imunitních mechanismech a v zachytávání cizorodých antigenů. Úplné vyřazení jater z funkce vede nejprve k nevyváženému kolísání hladin krevního cukru (stavy hypoglykemické a hyperglykemické se střídají podle momentálního přísunu glukosy); při trvalém nedodávání glukosy vzniká progresivní hypoglykemie (nemožnost jaterní glykogenolýzy a glukoneogeneze), která je první příčinou smrti organismu. Neschopnost tvorby močoviny v játrech (ureageneze) zahubí organismus nadměrným zvýšením hladiny toxického amoniaku (hyperamonemie). Chybění detoxikačních mechanismů (oxidace, redukce, konjugace) vede k nahromadění řady endogenních i exogenních toxických produktů. Na druhé straně je však funkční kapacita jater v základních funkcích zajištěna až desateronásobně, takže např. defekt v ureagenezi se projeví až po vyřazení 90 % jaterního parenchymu. Snížení proteosyntézy (především krátkodobých koagulačních faktorů) nebo poruchy exkrece se mohou projevit mnohem dříve.

## 2. Úloha jater v metabolismu

### 2.1. Metabolismus sacharidů

Bezprostředně po narození je metabolická energie získávána ze zásob jaterního glykogenu glykogenolýzou a následnou glykolýzou; tvorba fetálního glykogenu začíná už v 9. týdnu, ale nejvíce se ho tvoří krátce před porodem, kdy játra plodu obsahují dva až třikrát více glykogenu než játra dospělých jedinců; reakumulace nastává až za 2 týdny po narození a kapacity dospělých za 3 týdny. Kolísání glykemie u předčasně narozených novorozenců je způsobeno především nedostatečnou syntézou, ukládáním a degradací glykogenu. Přívod laktosy mlékem vyžaduje aktivitu laktasy v kartáčovém lemu enterocytů a přeměnu vzniklé galaktosy na glukosu v játrech. Hlavním zdrojem glukosy je u novorozenců glukoneogeneze.

### 2.2. Metabolismus proteinů

Syntéza albuminu se objevuje od 7.-8. týdne gestace a zvyšuje se recipročně s tvorbou  $\alpha_1$ -fetoproteinu, který je hlavní plasmatickou bílkovinou v časném fetálním období. Od 3 - 4. měsíce jsou fetální játra schopna produkovat fibrinogen, transferin a LDL-částice. Po narození se spektrum dále rozšiřuje a koncentrace i podíl jednotlivých proteinů v plasmě se mění. Koncentrace albuminu u novorozenců (~ 25 g/l) se zvyšuje na hodnoty 35 g/l za několik měsíců. Hladiny ceruloplasminu a faktorů komplementu se pomalu zvyšují; dolní hranice hodnot v dospělosti dosáhnou koncem 1. roku života. Naproti tomu koncentrace transferinu je při narození blízká hodnotám dospělých, v průběhu dalších 3 - 5 měsíců klesá, aby se opět zvyšovala. Odlišná aktivita některých enzymů v játrech má význam pro potřebu určitých aminokyselin v dietě. Kupř. snížená aktivita cystathionasy narušuje průběh přeměny methioninu na cystin metabolickou transsulfurační cestou; cystin je proto nutno dodávat; podobně je tomu u taurinu.

### 2.3. Metabolismus lipidů

V prvních dnech po narození se mění podíl lipoproteinových částic: převažující frakce HDL v pupečnickové krvi se mění prudkým nárůstem LDL, které jsou hlavní frakcí podobně jako v dospělosti. Přívodem tuku se objevuje i frakce obsahující chylomikra. Hlavním zdrojem energie v časném období po narození je jaterní  $\beta$ -oxidace mastných kyselin, která je doplňována případnou glykogenolýzou a nutnou glukoneogenezí. Novorozenec není ještě plně adaptován na protražované hladovění, z části pro omezenou ketogenezi v játrech.

### 2.4. Biotransformace

Novorozenec má sníženou kapacitu metabolizovat a detoxikovat některé léky pro ještě ne dostatečně rozvinutý mechanismus biotransformace v játrech; je to především mikrosomální systém umožňující oxidaci, redukci a hydrolýzu, a dále konjugační reakce v hladkém endoplasmatickém retikulu. Krátce po narození není ještě dostatečně aktivní uridinbisfosfát-glukuronosyltransferasa, která vytváří konjugáty s kyselinou glukuronovou (jako builirubinmono- a diglukuronid). Pro novorozence je velmi nebezpečná toxická odpověď na aplikaci chloramfenikolu nebo derivátů benzoylalkoholů. Snížená aktivita superoxididismutasy a glutathionperoxidasy spolu s nedostatkem vitamínu E zvyšuje náchylnost k poškození reaktivními formami kyslíku a dusíku.

### 2.5. Exkreční funkce

Exkreční funkce jater a tvorba žluče spolu úzce souvisí, stejně jako entero-hepatální recirkulace. Žlučové kyseliny jsou hlavním produktem degradace cholesterolu. Jejich inkorporace do smíšených micel s cholesterolem a fosfolipidy vytváří solubilní prostředí, které umožňuje ve střevě vstřebávání lipofilních součástí potravy jako tuků a v tučných rozpustných vitamínů. U novorozenců je nedostatečná zpětná resorpce žlučových kyselin v ileu a nízká jaterní clearance z portální krve. To má za následek zvýšenou koncentraci

žlučových kyselin v plasmě. Je snížena pohotovostní zásoba (pool) žlučových kyselin ve srovnání s dospělými jedinci, což může způsobit pokles žlučových kyselin v tenkém střevě pod kritickou hranici (2 mmol/l), která je nutná pro tvorbu micel. U předčasně narozených dětí bývá proto častější nález malabsorpce tuků a lipofilních vitaminů, objevuje se přechodná cholestáza a steatorhea.

### 3. Projevy hepatopatií

Na prvním místě je nutno rozlišit, zda se jedná o poškození *akutní* nebo *chronické*. Jaterní buňka má relativně dobrou regenerační schopnost, a pokud poškození nevede k nekróze, návrat k úplnému uzdravení je možný. Ve fázi hojení se však může uplatnit reakce nonhepatocytů, která se projevuje větší nebo menší aktivitou pojivové tkáně jater (vznik fibrózy).

#### 3.1. Zánět a nekróza

Oba procesy mohou probíhat současně, jindy převažuje jeden z nich. Škodlivinou je buď infekce (virová, bakteriální, jiná), chemická sloučenina (lék, toxická látka) nebo autoimunitní reakce, hypoxie. V laboratorním nálezu najdeme zvýšení enzymů vyplavených z jaterní buňky do krevní cirkulace: při poruše energetických pochodů na cytoplasmatické membráně jsou to především cytosolové enzymy (*ALT*, *cAST*, *LD*), při narušení mitochondriální membrány se zvyšují též enzymy lokalizované v mitochondriích (*mAST*, *GMD*, enzymy Krebsova cyklu). Pro určení vzájemného podílu nekróza/zvýšená permeabilita je velmi užitečný index *AST/ALT*; převyšuje-li hodnotu 0,7 - respektive 1,0 - přidružuje se a začíná převažovat nekróza. Při těžkém a rozsáhlém poškození dochází k masivnímu vyplavení všech enzymů; je vysoká též *LD*, *GMT* i *ALP*.

#### 3.2. Cholestáza

Cholestáza je alternativní odpovědí na poškození. Je definována akumulací látek normálně vylučovaných žlučí (*bilirubin*, *žlučové kyseliny*, *cholesterol*, *Cu*) nebo desorpcí enzymů lokalizovaných v kanalikulární membráně (*hepatobiliární isoenzym ALP*, *GMT*, *5-NTS*). Cholestáza může být navozena překážkou v odtoku žluče (obstrukční ikterus), ale i bez ní poškozením ultrastruktury a funkce hepatocytu nebo kanalikulárního systému.

#### 3.3. Steatóza

Je způsobena nahromaděním triacylglycerolů ve formě velkých nebo malých tukových kapének v cytoplasmě. Makrovezikulární forma je u alkoholového poškození jater, u diabetes mellitus, obezity, protein-kalorické malnutrici, totální parenterální výživě, po aplikaci methotrexátu, aspirinu, vitamínu A, glukokortikoidů; mikrovezikulární forma je součástí Reyova syndromu (tuková játra s encefalopatií), akutní hepatosteatózy v těhotenství, též po aplikaci valproátu, tetracyklinů. Charakteristickou laboratorní známkou je zvýšení *GMT* bez odpovídajícího zvýšení markerů cholestázy.

#### 3.5. Fibróza - cirhóza

Vzniká v průběhu reparační fáze po proběhlém zánětu (posthepatická cirhóza) nebo toxickém (postnekrotická cirhóza) ev. jiném (biliární cirhóza) poškození jaterního parenchymu aktivací a proliferací fibroblastů (ev. myofibroblastů). Rozšíření vymezeného pojiva způsobuje přestavbu jaterní tkáně, změnu v krevním průtoku (portální hypertenze) provázenou rozšířením portokaválních zkratů. Laboratorním markerem postupující fibrózy je zvýšení *kyseliny hyaluronové* a *lamininu v séru*.

#### 4. Testy pro diagnostiku, diferenciální diagnostiku a monitorování hepatopatií

Vyšetření funkční zdatnosti jater bylo označováno jako "jaterní testy". Před "enzymovou érou" to byla řada vložkových a zákalových reakcí, které zachycovaly změny v plasmatických bílkovinách navozené hepatopatiemi. Využití nitrobuněčných enzymů pro diagnostiku jaterních poruch znamenalo převrat v biochemickém vyšetření. Přesto při výběru zkoušek, kterými chceme rozpoznat a hodnotit patologické změny odehrávající se v játrech, musíme si uvědomit, že žádný z testů nemůže zachytit funkce jater v celé jejich mnohostrannosti a že žádný test není pro játra přísně specifický.

*Biochemické vyšetření jater zaměřujeme na testy odrážející:*

- **prostupnost a integritu membrán hepatocytu,**
- **produkci a vylučování žluče** (ev. látek vylučovaných žlučí),
- **změny v proteosyntéze hepatocytu,**
- **detoxikační funkci,**
- **poruchy v intermediárním metabolismu:**
  - \* dusíkatých látek,
  - \* sacharidů,
  - \* lipidů,
- **poruchy v energetickém metabolismu** (mitochondriální redox potenciál),
  - \* poměr arteriálních ketolátek
- **změny v non-hepatocytech:**
  - \* produkce imunoglobulinů,
  - \* testy na autoimunitu,
- **specifické jaterní změny provázející dědičné poruchy metabolismu,**
- **průkaz infekčních agens a markerů odpovědi.**

## 4.1. Základní biochemické testy

### 4.1.1. Vyšetření enzymů

Tab. 1: Diagnosticky významné enzymy a jejich topografie v hepatocytu

<i>Enzym</i>	<i>Symbol</i>	<i>Lokalizace</i>	<i>Diagnostický význam</i>	<i>Poznámka</i>
<b>Alaninaminotferasa</b>	<b>ALT</b>	cytosol	porucha permeability	relativně specifický
<b>Aspartátaminotferasa</b>	<b>AST</b>	cytosol (70 %), cAST mitochondrie (30 %) mAST	nekróza	málo specifický
Glutamátdehydrogenasa	GMD	mitochondrie	nekróza	málo citlivý
<b>Alkalická fosfatasa</b>	<b>ALP</b>	kanalikulární membrána (primární žlučovody)	cholestáza, útlak zdravé tkáně (nádor, absces)	těž další isoenzymy (kostní)
<b>g-glutamyltransferasa</b>	<b>GMT</b>	kanalikulární membrána	cholestáza, indukce syntézy (alkohol, léky)	nemá kostní isoenzym
5'-nukleotidasa	5-NTS	primární žlučovody	cholestáza, nádory	relativně specifická
β-glukuronidasa	GRS	lyzosity	ukládání v lyzosomech	M. Gaucher
<b>Pseudocholinesterasa</b>	<b>CHS</b>	drsné endoplasmatické retikulum	porucha proteosyntézy (otrava organofosfáty)	patologické je snížení (též genetické varianty)
Laktátdehydrogenasa	LD	cytosol	poškození, metastázy	<b>nespecifický</b> , (specifický isoenzym LD5)
Aspartátaminotferasa, mitochondriální isoenzym jako protein	mAST <sub>mass</sub>	mitochondrie	specifický marker nekrózy, monitorování po transplantaci	stanovení proteinu mAST

### 4.1.2. Vyšetření žlučových pigmentů

**S-bilirubin:** *cholestáza, porucha konjugace a vylučování*

**S-bilirubin- frakce)**

poměr: celkový/konjugovaný: *diferenciální diagnostika ikteru*

delta-bilirubin: *trvání obstrukčního ikteru*

### 4.1.3. Vyšetření moče

**urobilinogen, bilirubin:** *diferenciální diagnostika ikteru*

**glukosa:** *hepatogenní glykosurie*

## 4.2. Doplnkové testy

\* B-glukosa: *porucha jaterní glukoneogeneze*

\* P-prothrombin (Quickův test): *prognostický marker*

\* S-elektroforéza proteinů: *jaterní cirhóza (zvýšení β-γ-fraze, snížení albuminu)*

\* S-albumin; S-parathyrin (prealbumin): *indikátory poruchy jaterní proteosyntézy*

\* S-imunoglobuliny (IgG, IgA, IgM): *přechod do chronicity (IgG),*

*primární biliární cirhóza (IgM), progrese cirhózy- portokavální zkraty (IgA)*

\* Protilátky a antigeny virových hepatitid: *průkaz a diferenciální diagnostika virových hepatitid*

\* Autoprotilátky (AMA, ANA, SMA, LKM): *autoimunitní hepatopatie*

#### 4.3. Speciální testy

: B-NH<sub>3</sub>: *jaterní kóma, defekty enzymů ureageneze*; α<sub>1</sub>-fetoprotein: *hepatocelulární karcinom, hepatitida u kojenců, regenerace jater*; α<sub>1</sub>-antitrypsin: *hepatopatie u deficiencie*; ceruloplasmin: *M. Wilson*; ferritin: *hemochromatóza*; haptoglobin: *hemolytický ikterus*; bezsacharidový transferin: *chronický ethylismus*; hyaluronát, laminin: *fibróza*; laktát: *porucha glukoneogeneze, Fe, Cu: obstrukční ikterus*; koagulační faktory: *porucha proteosyntézy, intravaskulární diseminovaná koagulopatie*.

**4.5. Funkční testy: lidokain (MEGX), postprandiální žlučové kyseliny, AKBR** (arterial blood ketone bodies ratio), **PABA** (konjugace p-aminobenzoátu s glycinem)

**4.6. Dechové testy (s <sup>13</sup>C):** aminopyrin, fenacetin, methacetin, kofein, diazepam, erythromycin (*na mikrosomální komplex cytochromu P450*), fenylalanin, galaktosa (*cytosolová hydroxylasa a galaktokinasa*), 2-ketoisokaproát (*mitochondriální dehydrogenasa 2-ketokyselin*)

## 5. Klinická biochemie jaterních syndromů (1. část)

### 5.1. Akutní poškození jater

Projevuje se obvykle žloutenkou nebo nespecifickými známkami akutního onemocnění; v laboratorním nálezu je především různě velké zvýšení ALT a AST. Je nutno mít na mysli, že téměř 80% pacientů s akutní virovou hepatitidou nemusí být diagnostikováno klinicky, na infekci může upozornit zvýšení aminotransferas. Akutní virová hepatitida stejně jako výrazná nekróza nebo akutní hypoxie mívají maximální zvýšení aminotransferas v plasmě přesahující více než 10krát horní hranici normy; vyplaveny jsou i ostatní enzymy jaterní buňky. U ostatních akutních syndromů dochází k takovému zvýšení AST a ALT jen zřídka. Kupř. asi 25 % pacientů s akutní obstrukcí žlučovových cest může mít katalytickou koncentraci AST a ALT krátkodobě (pokles do 10 dnů) též výraznější; naproti tomu u nekomplikované hepatitidy nastává pokles po 3 – 5 týdnech; ALP u akutní virové hepatitidy bývá zvýšena jen 2 – 3 krát nad normu. Vrchol bilirubinemie dosahuje u dětí zřídka (u 1 %) hodnot nad 170 μmol/l, u dospělých to je v 27 % případů. Žloutenka se objevuje v 70 % případů hepatitidy typu A, ale jen u 30 – 50 % pacientů onemosených hepatitidou B; u hepatitidy C je to dokonce jen 20 – 33 % případů. U dětí je přímá korelace mezi věkem a maximem bilirubinemie. Podíl přímého bilirubinu bývá u akutního postižení nad 50 % celkového; jen u 15 % případů je mírně pod; je-li podíl přímého bilirubinu výrazněji pod 50 %, je nutno přemýšlet o jiné diagnóze (kupř. hemolytický ikterus). Zvýšená aktivita aminotransferas ani koncentrace bilirubinu není nejvhodnějším markerem závažnosti onemocnění; lépe to vystihuje prothrombinový čas: u ischemického nebo toxického poškození je velmi brzy prodloužen, po odstranění noxy se normalizuje do 24 – 36 hodin; trvá-li prodloužení více než 4 dny, možno usuzovat o špatné prognóze. U virové hepatitidy bilirubinemie nad 260 μmol/l a prothrombinový čas 3 sekundy nad normu je rovněž špatným znamením; pacienta je nutno častěji monitorovat pro nebezpečí vzniku encefalopatie.

#### 5.1.1. Virové hepatitidy

Specifický průkaz je imunochemický..

##### Antigeny a protilátky u virových hepatitid

Dnes je známo nejméně 7 původců virové hepatitidy označované písmeny A až G (v poslední době ještě TT-virus a SEN-virus). Chronické formy infekce způsobují viry hepatitidy B(=HBV), hepatitidy C (=HCV) a praděpodobně i G (=HGV). Virus hepatitidy D není schopen samostatné replikace; potřebuje k tomu přítomnost HBV (superinfekce nebo koinfekce). Ostatní viry (HAV, HEV a HFV) chronická onemocnění nevyvolávají.

## Hepatitis A

Virus hepatitidy A (HAV) je RNA virus o průměru 27 nm, patří do čeledi Picornaviridae (Enterovirus 72). Infekce se většinou případů děje fekálně-orálním přenosem. V průběhu inkubace, která trvá 15 - 45 dnů, je virus prokazatelný ve stolici a 14 dní před nástupem klinických příznaků i v krvi pacienta. Virus se zřejmě nejprve replikuje v trávicím traktu a pak teprve proniká k jaterním buňkám, kde se pomalu množí v cytoplasmě hepatocytů. Replikace je provázena vakuolizací a degenerací infikovaných buněk a difúzní zánětlivou reakcí. Chronická hepatitida A s perzistencí viru v organismu dosud nebyla popsána. Existuje však i netypický protražovaný průběh.

*Laboratorní diagnóza HAV infekce se děje průkazem:*

- *hepatitis A-antigen (HAAg)* ve stolici nebo jaterní tkáni. Je tak možno též rozpoznat kontaktem infikované osoby ještě před klinickými projevy onemocnění. Vylučování viru svědčí o infekci pacienta. Pozitivita se objevuje 1 - 2 týdny po začátku infekce a může trvat velmi krátce. Při začátku klinických projevů bývá pozitivita testu už jen u 50% případů.

- *hepatitis A protilátky-IgM (anti-HAV-IgM)* v séru je relativně časným a především dostupným testem pro diagnózu hepatitidy A. Vzestup protilátek začíná 4 týdny po infekci, vrcholí mezi 21. až 30 dnem onemocnění; pozitivita přetrvává 2 - 4 měsíce. Asi u 10-14% pacientů přetrvává 6 - 7 měsíců. Byly pozorovány i relapsy VHA, především u protražovaných případů.

Koncentrace **anti-HAV IgG** rovněž rychle stoupá a ve dvou třetinách případů dosahuje maxima kolem 80. dne onemocnění; pozitivita anti-HAV IgG přetrvává dlouho, mnohdy celoživotně.

## Hepatitis B

Průkaz antigenů a protilátek proti komponentám a produktům etiologického agens virové hepatitidy typu B umožňuje jednak specifickou diagnostiku, rozlišení nosičů zdravých od vironosičů s chronickým průběhem a především od nosičů infekčních. Dále pomáhá při určení prognózy stavů po proběhlé hepatitidě. Virus hepatitidy B (=HBV) je malý DNA-virus patří do čeledi Hepadnaviridae. Kompletní virion reprezentuje tzv. Daneova částice o průměru 42 nm; proteinovou kapsidu obklopuje obal o průměru 22 nm, tvořený glykoproteiny, proteiny a lipidy; dřeň virionu obsahuje cirkulární dvouvláknovou DNA, jejíž jeden kruh není uzavřen, dále proteinkinasy a polymerasy s aktivitou reverzní transkriptasy.

Po infekci virem hepatitidy B nastává po určité době pomnožení viru v játrech (replikace virové DNA). V této době lze v játrech prokázat HBcAg (c=core). Proteinový obal viru se tvoří v endoplazmatickém retikulu a spolu s materiálem HBcAg dává kompletní virové částice, které lze prokázat v elektronovém mikroskopu jako Daneho částice. Nadbytečná tvorba proteinového obalu vede k vylučování HBsAg (s=surface) do krevní cirkulace a stává se tak markerem infekce virem. HBcAg zůstává v játrech, do krevního oběhu není vylučován. HBsAg obsahuje 3 různé virové proteiny a lipidy hostitelského původu. Proteiny jsou produkty translace jediného genu a liší se pouze místem, ze kterého byl přepis nastartován. Jsou označovány písmeny S, M, L. Hb<sub>s</sub> obsahuje všem kmenům HBV společnou antigenní determinantu „a“ s alelovými páry „d-y“ a „w-r“. To je podkladem 4 antigenních subtypů: adw, adr, ayw, ayr. Jejich určení má epidemiologický význam (určení zdroje infekce).

Genom viru hepatitidy B obsahuje pouze 3 200 nukleotidů a představuje tak nejmenší genom ze známých DNA virů. V genomu byly identifikovány 4 oblasti, kódující již zmíněné „core“ (gen C) a „surface“ proteiny (gen S), dále gen pro DNA polymerasu a gen pro protein X.

Oblast C genu sestává z části označované pre-C (pre-core) a vlastního C genu. Jestliže transkripce probíhá kompletně od pre C, je výsledným produktem Hb<sub>c</sub> antigen; dojde-li však mutací pre-C oblasti ke vzniku „stop“ kodonu, probíhá transkripce pouze vlastního C genu a výsledným produktem je pouze Hb<sub>c</sub> antigen.

*Období replikace viru v hepatocytech* je charakterizováno přítomností HB<sub>s</sub>Ag, HB<sub>c</sub>Ag, HBV-DNA a DNA-polymerasy (markery replikace). Z hlediska organismu pacienta můžeme rozlišit dvě varianty tohoto stadia: (a) *imunoeliminaci*, při níž cytotoxické lymfocyty rozpoznávají infikované hepatocyty (tj. ty které exprimují na své membráně HB<sub>c</sub>Ag) a navozují jejich lýzu, což se projevuje zvýšením hladiny nitrobuněčných enzymů v cirkulaci, (b) *imunitoleranci*, kdy lymfocyty (z dosud nejasných důvodů) nejsou schopny rozpoznat či lyzovat infikované hepatocyty, takže zvýšené enzymů v krvi se neobjeví.

*HBeAg* je produktem C genu virového genomu a jeho *průkaz v krvi znamená přechod do aktivní formy hepatitidy*

*a především infekčnost pacienta.*

Perzistence HbeAg u dětí po maligním nádorovém onemocnění ukazuje na chronickou infekci HBV. Namísto je dlouhodobá terapie interferonem 2a, případně v kombinaci s famciclovirem. Vyšetřování HBV-DNA je vhodné pro monitorování těchto pacientů.

**Protilátky (anti-HB)** se tvoří proti všem antigenům a jejich průkaz odráží reakci organismu na infekci.

*Anti-HBs* se při normálním průběhu virové hepatitidy B objeví v cirkulaci nejdříve asi za tři měsíce. Asi 80 % pacientů je mají ještě po jednom roce.

*Anti-HBc* se nalézají jak v séru, tak vázané na jádro hepatocytů. U nosičů s přetrvávající infekcí jsou pozitivní jak v játrech, tak v séru. U zdravých nosičů mohou být přítomny pouze v séru.

*Poznámka:* Protilátky proti Hbs jsou zjišťovány až po vymizení Hbs z plazmy (někdy i po několika měsících – jsou totiž vázány v imunitním komplexu). V intervalu mezi vymizením Hbs z oběhu a detekcí anti-HBs protilátek vzniká často tzv. „diagnostické okno“, kdy v séru pacienta nejsou zjistitelné antigeny Hbs ani Hbe, ani protilátky proti těmto antigenům. V této fázi je pro určení diagnózy významný průkaz anti-HBc IgM protilátky. Nízké hladiny Ig protilátek přetrvávají i léta a jsou známkou překonaného onemocnění.

*Fáze „serokonverze“* Hbe na anti-HBe nastává normálně za 2-4 měsíce od počátku akutní infekce, ale při typické chronické infekci ji lze pozorovat třeba až za několik let. Přibližně u 2/3 případů dochází 1 až 3 měsíce před serokonverzí k výraznému zvýšení katalytické koncentrace ALT a AST v séru bez klinických projevů zhoršení nemoci. Je to způsobeno imunitní reakcí, při které dochází k eliminaci viru, což je provázeno zvýšenou nekrózou hepatocytů.

**Anti-HBe** jsou typickým nálezem pro zdravé nosiče. Vzácně jsou prokazatelné u pacientů s chronickou aktivní hepatitidou.

**DNA-polymerasa** (průkaz v séru) slouží jako test na infekciozitu pacienta.

Průkaz HBV-DNA po amplifikaci pomocí PCR patří k necitlivějším testům na přítomnost viru v organismu.

### **Hepatitis C**

Přenos viru nebyl zatím plně objasněn. Hlavní význam má zřejmě krevní cesta, jak ukazuje vysoká prevalence u hemofiliků, narkomanů používajících intavenózní aplikaci nebo pacientů na dialýze. Existuje též sexuální přenos (dokonce duální infekce s HIV) i přenos matka-dítě. Průběh může být od samého počátku asymptomatický (až 50%), takže diagnóza je určena až v chronickém stadiu. Asi 5% případů se rozvine fulminantně s vysokou mortalitou (80-90%). Chronická forma (vznikající až v 80% po infekci může probíhat jako relapsující nebo jako kontinuální ev. jako bezpříznakové nosičství. Asi 20% pacientů progreduje do cirhózy nebo hepatocelulárního karcinomu.

Pro průkaz infekce virem hepatitidy C (současné nebo proběhlé) se rutinně používá vyšetření specifického IgG namířeného proti HCV-antigenu (anti-HCV IgG). Existuje několik antigenů kódovaných genomem viru (Jde o RNA virus z čeledi Flaviridae). V průběhu infekce se nejprve objevuje anti-c22, pak anti-c33 a nejspíše anti-c100 protilátky. Proto komerční soupravy zaměřené pouze na anti-c100, mohou dát zpočátku falešně negativní výsledky. Ovšem pozitivita anti-HCV IgG není důkazem viremie, tedy důkazem právě probíhající infekce. Nepřímým důkazem akutní infekce je průkaz anti HCV IgM, který však není zatím rutinně dostupný. Viremii je možno s určitostí stanovit vyšetřením virové RNA metodou PCR. Toto je nutné před rozhodnutím k nasazení léčby interferonem  $\alpha$ .

Přítomnost anti-HCV IgG může znamenat: (některé diagnostické soupravy nejsou dostatečně citlivé ani specifické)

- překonanou infekci HCV a zhojenou bez následků
- proběhlou infekci HCV s přetrvávající viremii ale chudým klinickým a laboratorním nálezem
- chronickou virovou hepatitidu C s odpovídajícím klinickým, laboratorním i histologickým nálezem a pozitivitou testu HCV-RNA.

*Diagnostika* chronické hepatitidy C se opírá o následující kritéria :

- \* zvýšení aminotransferas (ALT) po dobu 6 (12) měsíců
- \* pozitivní HCV-RNA v séru
- \* histologický nálezní biopsie jater odpovídající chronické hepatitidě
- \* pozitivní anti-HCV protilátky

*Diferenciálně diagnosticky* je třeba odlišit především autoimunitní hepatitidy (Jedna z kontraindikací léčby interferonem  $\alpha$ , který je lékem volby u chronické hepatitidy C, je pozitivita protilátek proti hladké svalovině) a metabolické jaterní choroby

Chronická hepatitida C, která může přejít do aktivní formy cirhózy (asi 10-20 % všech případů) může též být podladem hepatocelulárního karcinomu.

*Genotypizace HCV* (genotypy a podtypy: 1a/b, 2a/c, 2b, 3a, 4 a další 5 až 11) poskytují důležitou informaci pro předpověď trvání onemocnění, vhodnou formu antivirové terapie a její účinnost (kupř. u genotypu 1 je nutná dlouhodobá terapie, u typu 2 a 3 je vhodná kombinace interferon-ribavirin).

### **Hepatitis D (Delta-hepatitis )**

Virus delta hepatitidy je nekompletní virová částice 35 nm v průměru obsahující jednovláknovou RNA. Pro vstup viru do hepatocytu potřebuje virus hepatitidy B (tvorbu HB<sub>s</sub>Ag). Proto infekce hepatitidou delta probíhá jako koinfekce nebo superinfekce na HB. HDV na rozdíl od HBV je přímo cytopatogenní a může vést k fulminantně probíhající hepatitidě.

K průkazu akutní i chronické delta-hepatitidy se používá průkaz *protilátek proti hepatitidě delta (anti-HDV)* (společně IgM a IgG). Objevují se v druhém týdnu po začátku klinického onemocnění. U chronické formy bývá vysoký titer. Současně je pozitivita HB<sub>s</sub>Ag.

Průkaz *delta antigenu (d-Ag)* v séru je zatím málo citlivým testem na přítomnost infekce. Lépe je provést průkaz v jaterní tkáni.



### Hepatitis E

Virus (neobalené částice o průměru 32 nm obsahující jedno lineární vlákno RNA) se přenáší fekálně-orální cestou, podobně jako HAV. Infekce má akutní průběh (inkubace trvá asi 6 týdnů), podobně jako hepatitida A, rovněž bez chronické manifestace. U těhotných žen může mít až 20% letalitu. Virus je vylučován žlučí do stolice, kde je proteasami dezintegrován.

*Specifická diagnóza* spočívá v průkazu *anti-HEV protilátek* (IgM a IgG), avšak jejich hladina u většiny rekonvalescentů poměrně rychle klesá; předpokládá se, že reinfekce HEV jsou možné a poměrně časté.

**Hepatitis F** HFV je virus experimentální hepatitidy

### Hepatitis G

Byly izolovány 3 viry (patří mezi RNA viry skupiny Flaviridae s podobnými vlastnostmi jako HCV), které jsou zatím označeny jako GBV-A, GBV-B a GBV-C. Je pravděpodobné, že viry GBV-A a GBV-B jsou opičího původu, zatímco GBV-C je lidským patogenem a je nyní označován jako *virus hepatitidy G (HGV)*. Virus byl nalezen u jedinců s mnohočetnými transfúzemi (hemofilici), u narkomanů aplikujících drogu intravenózně a pod., a též u různých klinických forem hepatitid.

HGV může infikovat játra jako samostatný virus nebo současně s HBV nebo HCV (duální infekce)

Klinicky je *hepatitida G* velmi mírná a probíhá obvykle bez ikteru. U části pacientů vzniká chronická hepatitida. Asi polovina pacientů má jen lehce zvýšené aminotransferasy; druhá polovina má aktivitu „jaterních“ enzymů ve fyziologických mezích. Virus je citlivý na interferon.

*Molekulárně biologické metody:*

V blízké budoucnosti bude patřit i do běžné specifické diagnostiky virových hepatidid metody používané v molekulární biologii (PCR a LCR)

Byly identifikovány další viry **TTV** a **SEN**.

**Tab 2: Výskyt markerů u chronické virové hepatitidy (diferenciální diagnostika mezi jednotlivými typy)**

Markery				Diagnóza
HBsAg	HBeAg	anti-HBe	anti-HD	
+	+	-	-	hepatitida B
+	-	+	-	možná hepatitida B (1)
+	+	-	+	hepatitida B + "delta" hepatitida (1)
+	-	+	+	"delta" hepatitida
-	-	-	-	„non-A non-B“ hepatitida nebo jiné virové hepatitidy

*Poznámka:* (1) Diagnóza hepatitidy B je potvrzena imunohistochemickým průkazem přítomnosti HBcAg v hepatocytech při jaterní biopsii.

(2) Vysoká hladina celkových nebo IgM-protilátek proti HD odpovídá současné přítomnosti HDAg v játrech a replikaci aktivního viru hepatitidy "delta" (HDV).

**Tab. 3: Určení stavu imunity proti viru hepatitidy B (HBV)**

Marker			Stav imunity
HBsAg	anti-HBs	anti-HBe	
-	+	+	Infekce v minulosti, stav remise
-	+	-	očkovaní jedinci
-	-	+	podlimitní nosiči HBsAg nebo infekce v minulosti s již negativním anti-HBs

**Tab.4: Výskyt různých markerů virových hepatid (typ A, B, "delta") v séru nemocných**

Markery									Diagnóza
IgM-anti-HAV	HBs-Ag	HBe-Ag	anti-HBe	anti-HBc	IgM-anti-HBc	HDAG	anti-HD	IgM-anti-HD	
-	+	+/-	-	+	+	-	-	-	akutní hepatitida B (časná fáze)
-	-	-	+	+	+	-	-	-	akutní hepatitida B (pozdní fáze)
+	-	-	-	-	-	-	-	-	hepatitida A
+	+	+/-	-/+	+	-	-	-	-	hepatitida A u nosičů antigenu HBs

-	+	+	-	+	+	+	-	-	hepatitis B + "delta" hepatitida
-	+	+/-	-/+	+	+	-	+	+	(koinfekce)
-	+	+/-	-/+	+	-	+	-	-	"delta" hepatitida
-	+	+/-	-/+	+	-	-	+	+	(superinfekce u HBsAg nosičů)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	hepatitida jiného virového typu

Vysvětlivky: + pozitivní reakce, - negativní reakce

### 5.1.2. Hepatitidy při infekci jinými viry nebo jiným infekčním agens

Klinické projevy akutního zánětu jater mohou být v obraze infekce herpetickými viry, cytomegalovirem, virem Ebsteina a Barrové (při infekční mononukleóze), enteroviry, reoviry (u novorozenců), adenoviry, parvoviry (u dětí); také virus varicella-zoster, coxsackie-virus. Leptospiroza, toxoplasmóza má také v klinickém obraze známky poškození funkce jater.

Je možná i superinfekce jinými hepatotropními viry u pacientů s chronickou hepatitidou (kupř. chronická hepatitida C komplikovaná akutní infekcí HBV nebo HAV, provázená náhlým vzestupem aminotransferas, bilirubinemií).

### 5.2. Toxické nebo ischemické poškození jater

Projevuje se výrazným zvýšením aminotransferas (*více než 100krát nad horní hranici*, což není obvyklé u virových hepatitid); *AST je vyšší než ALT*. Je-li  $AST > 50 \mu\text{kat/l}$  24 hodin po začátku klinických projevů, jde o toxické nebo ischemické poškození. Pokles (po odstranění noxy) je rychlý (AST klesá rychleji než ALT): AST se normalizuje za 7 dní. Validním markerem závažnosti poškození je *prodloužení prothrombinového času ( $> 4 \text{ s}$  nad horní hranici)*, pokles je známkou úzdravy. Hyperbilirubinemie nebývá výrazná ( $< 34 \mu\text{mol/l}$  u 80 % nemocných), naproti tomu *zvýšení LD přesahuje hodnoty aminotransferas*. U akutní virové hepatitidy je počáteční zvýšení LD jen u poloviny pacientů a nepřesahuje dvojnásobek normálu. Výjimku činí hepatitida u infekční mononukleózy, kde LD pochází z zvýšených monocytů.

### 5.3. Fulminantní jaterní selhání (jaterní encefalopatie)

Vzniká při *masivní nekróze hepatocytů* nebo jako *velmi rozsáhlé poškození jaterních funkcí* u pacientů bez známého předcházejícího onemocnění hepatobiliárního systému. Jde o výraznou poruchu jak syntetické, tak exkretční a detoxikační funkce jater provázenou *encefalopatií*. V perinatálním období jaterní selhání může navazovat na prenatálně založený defekt.

Největší riziko vzniku fulminantního selhání u mladých jedinců bývá komplikace virové hepatitidy typu A, B, D, méně u typu C nebo E, na rozdíl od dospělých, kdy nejčastěji vzniká fulminantní selhání u infekce HCV při superinfekci virem hepatitidy A. Jinou příčinou jsou hepatotoxické léky (kupř. fenacetin), jedy (tetrachlormethan, toxiny (*Amanita phalloides*)), dále akutní ischemie (hypoxie), cirkulační šok, cyanotická srdeční vada, vaskulární okluze.

V laboratorním nálezu je markantní vzestup aminotransferas více než 40 - 100násobně (AST převyšuje ALT), vysoká je glutamátdehydrogenasa, laktátdehydrogenasa i GMT; ALP nebývá tak výrazně zvýšena. Charakteristická je hypoglykemie na lačno, snížení albuminu a především hypoprothrombinemie (prodloužení Quickova času); stoupá krevní amoniak.

Pro kvantifikaci nekrózy je doporučováno stanovení mitochondriálního isoenzymu AST jako protein ( $mAST_{\text{mass}}$ ); orientačním testem je index AST/ALT (hodnoty  $> 1$  až  $2$ ). Novým prognostickým testem akutního jaterního selhání u dětí je test konjugace glycinu s 4-aminobenzoátem (PABA) tj. koncentrace 4-aminohippurátu v séru měřená 30 min po podání PABA.

*Podstatou jaterní encefalopatie je:*

- (a) Synergismus neurotoxického účinku amoniaku, merkaptanů, mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem a fenolových látek.
- (b) Porucha permeability hematoencefalické bariéry
- (c) Alterace počtu neuronových receptorů a jejich afinity při převodu nervového vzruchu (porucha neurotransmise)
- (d) úbytek energetického potenciálu mozkových buněk

*Hlavním metabolickým toxinem je amoniak. Jeho nedostatečné vychytávání v těžce postižených játrech přeměnou na ureu nebo glutamin vede ke zvyšování jeho hladiny v cirkulující krvi. Mozková tkáň, která je na účinek amoniaku velmi citlivá, se snaží amoniak detoxikovat v cytosolu astrocytů přeměnou na glutamin. V počátečním stadiu hyperamonemie syntéza a sekrece glutamátu do synaptické štěrby stoupá. Vazbou na postsynaptické receptory se zvyšuje excitační odpověď otevřením  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  kanálu s následnou depolarizací. To je pravděpodobně příčinou exaltovanosti, hlučného chování a psychomotorického neklidu pacienta. Při přetrvávání zvýšené koncentrace amoniaku však dochází k úbytku glutamátu a poklesu excitační neurotransmise. Takto se spotřebovává glutamát v CNS, který je důležitý excitační neurotransmitter. Inhibiční neurotransmitter 4-aminobutyrate je syntetizován rovněž z glutamátu, a to i ve střevě, odkud se nezachycen poškozenými játry dostává ve zvýšené míře krevní cirkulací do mozku. Při převodu nervového vzruchu obsazuje  $\text{GABA}_A$ -benzodiazepinové receptory, které regulují chloridový kanál. Podstatou inhibiční neurotransmise je pak influx  $\text{Cl}^-$  s následnou hyperpolarizací postsynaptického neuronu. Tato situace je odpovědná za vznik anxiózy, myorelaxace, hypnózy a komatu. Amoniak též aktivuje tento benzodiazepinový receptorový komplex přímo. Byla rovněž prokázána syntéza endogenních benzodiazepinů se synergickým receptorovým GABA efektem ve smyslu inhibice elektrického impulsu.*

*Při hepatálním poškození se zvyšuje i permeabilita hematoencefalické bariéry pro neutrální aminokyseliny a jejich výdej při poklesu průtoku krve mozkiem. Změny aktivity transportních mechanismů způsobují přednostní transport aromatických aminokyselin, zvláště fenylalaninu, který blokuje hydroxylaci tyrosinu a tím syntézu dopaminu a noradrenalinu; dochází tak k náhradní metabolizaci za vzniku fenylethanolaminu a oktopaminu (falešné neurotransmitery soutěžící o vazebná místa na katecholaminových receptorech).*

*Vysoký obrat 5-hydroxytryptaminu (z tryptofanu - jeho transport je také porušen) zhoršuje funkci thalamu a retikulární formace. Z tryptofanu vzniká také kynurenin a z něho vysoce **neurotoxická kyselina chinolinová**. Větvené aminokyseliny nemají vliv na poruchy metabolismu katecholaminů, ale výrazně snižují syntézu serotoninu.*

*Synergicky s amoniakem působí merkaptany, které vznikají nekompletním odbouráváním methioninu a cysteinu.*

*Je ovlivněn energetický metabolismus mozku. Co se týče hmotnosti, tvoří mozek pouze 2 % tělesné hmotnosti, ale odebírá z krevní cirkulace 20 % objemu krve: Hlavním energetickým substrátem pro mozek je glukosa a její metabolizace v citrátovém cyklu. Při detoxikaci nadměrného amoniaku vychytáváním na glutamát za vzniku glutaminu, ubývá rychle glutamát v astrocytech a tím i jeho prekursor 2-oxoglutarát, který je nezbytnou složkou citrátového cyklu. Nefunkční cyklus nedodává dostatek oxidovaného  $\text{NAD}^+$  a FAD pro oxidační fosforylaci a regeneraci ATP; klesá tak rychle energetický potenciál mozkových buněk se všemi fatálními důsledky.*

*Vysoké hladiny amoniaku a glutaminu v mozkové tkáni vyvolávají mozkový edém a selhání autoregulace mozkového krevního oběhu.*

## 5.4. Reyeův syndrom

Je to akutní encefalopatie v kombinaci s tukovou degenerací viscerálních orgánů. Postihuje děti nejčastěji kolem 6 roku (4. až 11. r). Byl prokázán *vztah k podávání aspirinu* u těchto dětí. Jde pravděpodobně o generalizovanou mitochondriální dysfunkci navozenou některými viry nebo toxicky působícími látkami. Aktivita hepatálních mitochondriálních enzymů (ornithin-transkarbamoylasy, karbamoylfosfátsynthasa, pyruvátdehydrogenasa) bývá snižená na méně než 50 % normální aktivity.

V laboratorním nálezu je nápadný rychlý vzestup aminotransferas až na enormní hodnoty. Stoupá (až na trojnásobek)  $B-NH_3$ , který je určitým prognostickým ukazatelem. Bilirubin zůstává většinou normální až lehce zvýšený. Klinický laboratorní vývoj možno rozdělit do 5 stádií (I – V); u většiny pacientů onemocnění dojde maximálně do stádia III (lehké jaterní kóma); u některých však onemocnění progreduje (stádium IV – V, kdy může končit fatálně. Dochází k enormnímu vyplavení enzymů z jater (kromě AST a ALT též glutamátdehydrogenasa), dále laktátdehydrogenasa, kreatinkinasa z kosterního svalstva. Zvýšené jsou aminokyseliny, močová kyselina, mastné kyseliny, u kojenců je tendence k hypoglykemii; je snižená hladina prothrombinu neodpovídající na podání vitamínu K.

### „Reye-like“ onemocnění

Podobný klinický a patologický obraz jako Reyeův syndrom mohou mít některá metabolická onemocnění s postižením jaterní funkce jako jsou některé organické acidurie s primárním nebo sekundárním defektem v oxidaci mastných kyselin v játrech, dědičné enzymopatie v ureagenetickém cyklu (deficience karbamoylfosfátsynthetasy, nebo ornithin-transkarbamoylasy), fruktosemie, deficience acyl-CoA-dehydrogenasy, jaterní karnitin-palmitoyltransferasy, 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA-lyasy. Mezi další vyvolávací agens patří toxiny a léky (hypoglycin A, salicyláty, valproát), hemorhagický šok s encefalopatií, infekce nebo intoxikace CNS (meningitis, encephalitis, toxická encefalopatie).

## 5.5. Jaterní selhání u novorozenců

Novorozenecké jaterní selhání je odlišné od jaterního selhání v pozdějších věkových obdobích jak v klinickém projevu tak ve výsledcích laboratorních testů. Především je velmi problematické rozpoznat známky encefalopatie, která je hlavním příznakem jaterního selhání u dospělých a dětí. Hyperbilirubinemie je u novorozenců způsobena řadou příčin. Velmi důležitou známkou je však zvýšení *konjugovaného bilirubinu*, zejména hned při narození. Zvýšení aminotransferas není příznačné; u fetální formy jaterního selhání je často katalytická koncentrace normální, na rozdíl od perinatální formy, kde bývá výrazně zvýšena. *Koagulopatie a hypoalbuminemie* patří mezi nejdůležitější laboratorní známky porušené funkce jater u novorozenců. I zde je však třeba mít na mysli deficit vitamínu K. Také přítomnost diseminované intravaskulární koagulopatie může přicházet diferenciatně diagnosticky v úvahu. V tomto případě pomáhá stanovení faktoru VIII, jehož tvorba není závislá na vitamínu K. Vyšetření hladiny amoniaku je pouze pomocnou známkou. Důležitým příznakem u fetálního novorozeneckého jaterního selhání je přítomnost *portální hypertenze*.

### Klasifikace a příčiny neonatálního jaterního selhání

#### \* Fetální forma

(mitochondriální cytopatie, renální proximální tubulární dysgeneze a neonatální hemochromatóza, Niemannova a Pickova choroba typ C, infekce Echovirem 9 nebo Parvovirem B19, hemofagocytová lymfocytóza, neonatální hemochromatóza, podávání valproátu sodného, venookluzní onemocnění)

#### \* Fetální nebo neonatální forma

(infekce cytomegalovirem, lupus, deficience 3-oxosteroidreduktasy)

*\* Perinatální forma*

(infekce viry herpes simplex I nebo II, echovirem 11, coxsakiemi, galaktosemie, šok, tyrosinemie, hereditární intolerace fruktosy)

**Testy pro diagnostiku akutního selhání jater u dětí**

*V krvi:* Quickův test, aPTT, fibrinogen, koagulační faktory II, V, VII

bilirubin (konjugovaný, nekonjugovaný), ALT, AST, GMT, LD, GMD, ALP

amoniak, laktát, pyruvát,

ABR, elektrolyty

glukosa, kreatinin, urea, cholesterol, triacylglyceroly

AMS, protein, albumin, AFP, aminokyseliny (Fisherův index)

krevní obraz, retikulocyty

*V moči:* aminokyseliny, organické kyseliny, glukosa

clearance kreatininu

*Poznámka:* Pro včasnou diagnostiku fulminantního jaterního selhání se doporučuje nověji jako prognostický test stanovení *kapacity jater konjugovat podanou 4-aminobenzoovou kyselinu s glycinem (tj. vznik 4-aminohipurátu a 4-acetamidohipurátu.*

**6. Autoimunitní hepatopatie**

*Autoimunitní hepatitida* je charakterizována kontinuální hepatocelulární nekrózou navozenou autoimunitní reakcí, obvykle se zánětem a fibrózou, která má tendenci přejít do cirhózy a jaterního selhání. Predispozice k autoimunitě je asi vrozená; je navozena různými spouštěcími mechanismy (chemické látky, virové částice). Klinický obraz i průběh může být velmi variabilní – od bezpříznakové až po akutně, dokonce fulminantně probíhající formy. Bývá obvykle *středně vysoké zvýšení aminotransferas (<16 mkat/l), hyperbilirubineme (převažuje konjugovaná frakce) se pohybuje od 35 do 170 mmol/l, ALP bývá normální nebo jen málo zvýšená, IgG je zvýšený, častá je hypoalbuminemie a hypoprothrombinemie; v krevním obraze je často normochromní normocytová anemie, leukopenie a trombocytopenie, zhoršující se při rozvoji portální hypertenze. Cirkulující protilátky (antinukleární, proti hladké svalovině, thyreoglobulinu, revmatoidní faktory)* jsou velmi častým laboratorním nálezem. Titr nad 1:40 je už značně podezřelý, protože u zdravých dětí je pozitivita výjimečná. U dětí mezi 2 – 14 rokem to bývají spíše autoprottilátky typu LKM. Onemocnění je často kombinováno s jinými autoimunitními chorobami (thyreoiditis, autoimunitní hemolytická anemie, revmatoidní artritida, ulcerózní kolitida, proliferující glomerulonefritida, juvenilní diabetes mellitus, Sjogrenův syndrom).

Současně se vyskytují u postižených pacientů haplotypy HLA - B1-B8, -DRw3, -DRw4.

**Autoprottilátky**

**a) Antimitochondriální protilátky (AMA)**

Pozitivní jsou u *primární biliární cirhózy, chronické aktivní hepatitidy* a u *syndromu pseudolupus erythematodes*. Asi 95 % pacientů s primární biliární cirhózou má zvýšený titr IgG třídy protilátek AMA, což je spojeno s destrukcí malých intrahepatálních žlučvodů vedoucích k cholestáze a cirhóze.

**Tab. 5: Patologické změny AMA**

<i>Onemocnění</i>	<i>Titř (komplement- -fixační reakce)</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
Primární biliární cirhóza	1: 258 až 1: 32 000	Je to nejdůležitější diagnostický marker. Diferenciálně diagnosticky odliší intrahepatální a extrahepatální uzávěr a dále diferencuje formy intrahepatální cholestázy. Při uzávěru žlučových cest kamenem, tumorem nebo hnisavým zánětem je AMA negativní. Zdravá populace je pozitivní jen v 0,5 %; více příbuzní u pacientů s primární biliární cirhózou
Chronická aktivní hepatitida	1: 256	Asi 35 % případů má pozitivní reakci; často předchází intrahepatální cholestáza. Je možné překrývání s primární biliární cirhózou
Syndrom pseudolupus erythematodes		Syndrom indukovaný lékem. Má rovněž vysoký titř AMA (zejména s mitochondriální frakcí)
Tyreotoxikóza, Hashimotova struma, Addisonova choroba, perniciózní anemie, myasthenia gravis		2-3 % případů mohou mít AMA pozitivní

Pro průkaz se užívá jako standardní techniky kryožerů tkání hlodavců (játra, ledvina, žaludek =LKS) Existuje řada mitochondriálních autoantigenů; jsou označovány jako M1 až M9. Pro primární biliární cirhózu je nejspecifičtější typ M2 (antigen: pyruvátdehydrogenasový komplex) – výskyt až 96%, u jiných chronických hepatopatií je pozitivita asi 30 %, u systémové sklerózy 7-25 %. Autoantigen M6 je příznačný pro hepatitidu navozenou iproniazidem (u 60 % případů), typ M8 u primární biliární cirhózy (až 55 % případů), typ M9 (glykogenfosforylasa) se vyskytuje u primární biliární cirhózy (asi 50%), chronické aktivní hepatitidy (10 %), u akutní a chronické virové hepatitidy (3 %).

**b) Autoprotilátky proti jaterní membráně**

Sérum pacientů s autoimunitní formou chronické aktivní hepatitidy reaguje s antigenem získaným z membrány hepatocytů (používá se kupř. z hepatocytů opic). Mezi autoantigeny se počítá rozpustný jaterní antigen (=SLA), jaterní specifický lipoprotein (=LSP) a jaterní membránový antigen (LMA). V rutině se mnoho nepoužívají.

Pozitivita se udává pouze u *autoimunitní formy aktivní hepatitidy* nezávisle na stupni zánětu nebo cirhotické přestavbě. Chronická aktivní hepatitida indukovaná virem, primární biliární cirhóza nebo metabolická jaterní onemocnění jiné geneze dávají negativní reakci. To má význam pro stanovení terapie této autoimunitní formy chronické aktivní hepatitidy.

**c) Autoprotilátky proti mikrosomálním antigenům (=LKM)**

(liver/kidney microsomal antibody)

Vyskytují se v různých variantách: LKM-1, LKM-2, LKM-3 a je možno podle jejich pozitivita klasifikovat různé *typy autoimunitních hepatitid (typ I až III)*:

- LKM-1 jsou prokazovány u *autoimunitní hepatitidy typu II* a u *virové hepatitidy C*
- LKM-2 se vyskytují u *hepatitidy navozené tienilovou kyselinou*
- LKM-3 jsou nalézány u některých pacientů s *autoimunitní hepatitidou typu II* a u *chronické virové hepatitidy D*.

*Poznámka:* LKM protilátky u virových hepatitid mají nižší titř než u hepatitid autoimunitních

**Tab. 6: Diferenciální diagnostika variant autoimunitních hepatitid pomocí autoprotilátek**

Varianta	ANA	LKM-1	LKM-2	LKM-3	SLA	SMA	AMA
Typ I	+	-	-	-	-	+	-
Typ II	-	+	-	+/-	-	-	-
Typ III	-	-	-	-	+	+/-	+/-

*Typ I:* Jde o klasickou „lupoidní“ hepatitidu mladých žen s pozitivními dsDNA a ANA protilátkami a hypergamaglobulinemií.

*Typ II* je charakterizován LKM-1 protilátkami, ale ANA a SMA jsou obvykle negativní. Jde většinou o ženy, onemocnění začíná často jako akutní hepatitida a může mít špatnou prognózu

*Typ III* je sdružen s pozitivitou autoprotilátek proti SLA.

Průkaz autoprotilátek odhaluje tzv. autoimunitní choroby. U jaterních onemocnění není kauzální faktor znám, proto se řadí mezi idiopatické formy. Přicházejí v úvahu dvě klinické jednotky; **primární biliární cirhóza** a **autoimunitní forma aktivní chronické hepatitidy**. Autoprotilátky však mohou být zvýšeny u některých pacientů s virovou hepatitidou (hepatitis D) nebo hepatitidou navozenou léky. Protilátky proti složce LKM odpovídající cytochromu P450 jsou často pozitivní u jedinců s chronickou hepatitidou C. Vysvětluje to homologii antigenního peptidu HCV a cytochromu P450.

### Použitá základní literatura

1. Balistreri WF. The liver and biliary system, in: Nelson Textbook of Pediatrics (ed. Behrman, Kliegman Jenson), 16. vyd., W.B. Saunders comp., Philadelphia 2000, p. 1194-1203.
2. Dufour DM, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. Clin. Chem 46, 2027-2049, 2000.
3. Laker MF. Liver function tests. British Med. J. 301, 250, 1990.
4. Lebel S, Nakamachi Y, Hemming A, Verjee Z, Phillips MJ, Furuya KN. Glycine conjugation of para-aminobenzoic acid (PABA). J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 36, 62-71, 2003.
5. Masopust J. Klinická biochemie - požadování a hodnocení biochemických vyšetření, část I. Karolinum - nakl. Univerzity Karlovy, Praha 1998.