

prof. MUDr. Jaroslav Masopust, DrSc.

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

Akutní hepatopatie (virové hepatitidy, toxické hepatitidy) mají v dětském věku podobné změny v laboratorních hodnotách jako dospělí pacienti; na odlišnosti je ve sdělení upozorněno. Týká se to zejména Reyeova syndromu a akutního selhání funkce jater u novorozenců.

Klíčová slova: akutní hepatopatie, jaterní testy, děti, novorozenci.

LIVER FUNCTION EXAMINATION IN PAEDIATRICS (Part 2)

Acute hepatopathies (viral hepatopathies, toxic hepatopathies) in children usually cause similar changes in laboratory values like in adult patients, the existing differences are being brought to our attention in the article. Reye's syndrome and acute liver failure in newborns are specially being discussed.

Key words: acute hepatopathy, liver tests, children, newborns.

5. Klinická biochemie jaterních syndromů

5.1. Akutní poškození jater

Projevu 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 hepatidou nemusí být diagnostikováno klinicky, na infekci může upozornit zvýšení aminotransferáz. Akutní virová hepatida stejně jako výrazná nekróza nebo akutní hypoxie mívají maximální zvýšení aminotransferáz v plazmě přesahující více než 10× 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 žlučových cest může mít katalytickou koncentraci AST a ALT krátkodobě (pokles do 10 dnů) těžší výraznější; naproti tomu u nekomplikované hepatitidy nastává pokles po 3–5 týdnech; ALP u akutní virové hepatitidy bývá zvýšena jen 2–3krát nad normu. Vrchol bilirubinémie dosahuje u dětí zřídka (u 1 %) hodnot nad 170 $\mu\text{mol/l}$, u dospělých to je v 27 % případů. Žloutenka se objevuje v 70 % případů hepatitidy typu A, ale jen u 30–50 % pacientů onemocnělých hepatidou B; u hepatitidy C je to dokonce jen 20–33 % případů. U dětí je přímá korelace mezi věkem a maximem bilirubinémie. 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 aminotransferáz ani koncentrace bilirubinu není nejvhodnějším markerem závažnosti onemocnění; lépe to vystihuje protrombinový čas: u ischemického nebo toxického poškození je velmi brzy prodloužen, po odstranění noxy se normalizuje do 24–36 hodin; trvá-li prodloužení více než čtyři dny, je možno usuzovat o špatné prognóze. U virové hepatitidy bilirubinémie nad 260 $\mu\text{mol/l}$ a protrombinový čas tři 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 sedm 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 pravděpodobně 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, patřící do čeledi Picornaviridae (Enterovirus 72). Infekce se ve většině 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 ve trávicím traktu, a pak teprve proniká k jaterním buňkám, kde se pomalu množí v cytoplazmě hepatocytů. Replikace je provázena vakuolizací a degenerací infikovaných buněk a difuzní zánětlivou reakcí. Chronická hepatida A s perzistencí viru v organismu dosud nebyla popsána. Existuje však i netypický protažený 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 čtyři 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 protažených 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 patřící 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 proteinkinázu a polymerázu s aktivitou reverzní transkriptázy.

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 Daneovy 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 tři 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. HBsAg obsahuje všem kmenům HBV společnou antigenní determinantu „a“ s alelovými páry „d-y“ a „w-r“. To je podkladem čtyř 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 čtyři oblasti kódující již zmíněné „core“ (gen C) a „surface“ proteiny (gen S), dále gen pro DNA polymerázu 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 HBe antigen; dojde-li však mutací pre-C oblasti ke vzniku „stop“ kodonu, probíhá transkripce pouze vlastního C genu a výsledným produktem je pouze HBc antigen.

Období replikace viru v hepatocytech je charakterizováno přítomností HBsAg, HBeAg, HBV-DNA a DNA-polymerázy (markery replikace). Z hlediska organismu paci-

Tabulka 2. Výskyt markerů u chronické virové hepatitidy (diferenciální diagnostika mezi jednotlivými typy)

Markery				Diagnóza
HBsAg	HBeAg	anti-HBe	anti-HDV	
+	+	–	–	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 HDAG odpovídá současné přítomnosti HDAG v játrech a replikaci aktivního viru hepatitidy „delta“ (HDV).

Tabulka 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

Tabulka 4. Výskyt různých markerů virových hepatitid (typ A, B, „delta“) v séru nemocných

Markery									Diagnóza
IgM anti-HAV	HBsAg	HBeAg	anti-HBe	anti-HBc	IgM anti-HBc	HDAG	anti-HDV	IgM anti-HDV	
–	+	+/-	–	+	+	–	–	–	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

enta můžeme rozlišit dvě varianty tohoto stadia: (a) imunoeliminaci, při níž cytotoxické lymfocyty rozpoznávají infikované hepatocyty (tj. ty, které exprimují na své membráně HBcAg) a navozují jejich lýzu, což se projevuje zvýšením hladiny nitrobuněčných enzymů v cirkulaci, (b) imunotoleranci, kdy lymfocyty (z dosud nejasných důvodů) nejsou schopny rozpoznat či lyzovat infikované hepatocyty, takže zvýšení 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 infekčnosti pacienta.

Perzistence HBeAg u dětí po maligním nádorovém onemocnění ukazuje na chronickou infekci HBV. Na místě je dlouhodobá terapie interferonem α , 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 HBsAg jsou zjišťovány až po vymizení HBsAg z plazmy (někdy i po několika měsících – jsou totiž vázány v imunitním komplexu). V intervalu mezi vymizením HBsAg z oběhu a detekcí anti-HBs protilátek vzniká často tzv. „diagnostické okno“, kdy v séru pacienta nejsou zjištělné antigeny HBs ani HBe, ani protilátky proti těmto antigenům. V této fázi je pro určení diagnózy významný průkaz anti-HBc IgM protilátek. Nízké hladiny Ig protilátek přetrvávají i léta a jsou známkou překonaného onemocnění.

Fáze „sérokonzverze“ HBeAg 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 sérokonverzí 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 ze zdravé nosiče. Vzácně jsou prokazatelné u pacientů s chronickou aktivní hepatitidou.

DNA-polymeráza (průkaz v séru) slouží jako test na infekci 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 intravenózní aplikaci nebo pacientů na dialýze. Existuje též sexuální přenos (dokonce duální infekce s HIV) i přenos matka-dítě. Průběh může být od samého počátku asympto-

matický (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 nejpозději 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 o nasazení léčby interferonem α .

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 aminotransferáz (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 hepatitidu (jedna z kontraindikací léčby interferonem α , 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 podkladem 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 HBsAg). Proto infekce hepatitidou delta probíhá jako koinfekce nebo superinfekce na HBV. HDV, na rozdíl od HBV, je přímo cytopatogenní a může vést k fulminantně probíhající hepatitidě.

K průkazu akutní i chronické delta-hepatitidy se používá průkazu protilátek proti hepatitidě delta (anti-HDV) (společně IgM a IgG). Objevují se v druhém týdnu po začátku klinického onemocnění. U chronické formy bývá vysoký titr. Současně je pozitivita HBsAg.

Průkaz delta antigenu (δ -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 šest 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 proteázami 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 tři 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 transfuzemi (hemofilici), u narkomanů aplikujících si drogu intravenózně apod., 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 aminotransferázy; druhá polovina má aktivitu „jaterních“ enzymů ve fyziologických mezích. Virus je citlivý na interferon.

Molekulárně biologické metody:

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

Byly identifikovány další viry TTV a SEN.

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

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

5.1.2. Hepatitidy při infekci jinými viry nebo jiným infekčním agens

Klinické projevy akutního zánětu jater mohou být v obzoru 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. Leptospiróza, toxoplazmóza 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 aminotransferáz, bilirubinemií).

5.2. Toxické nebo ischemické poškození jater

Projevuje se výrazným zvýšením aminotransferáz (více než 100krát nad horní hranici, což není obvyklé u virových hepatitid); AST je vyšší než ALT. Je-li AST > 50 μ 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 sedm dní. Validním markerem závažnosti poškození je prodloužení protrombinového času (> 4 s nad horní hranici), pokles je známkou úzdravy. Hyperbilirubinemie nebývá výrazná (< 34 μ mol/l u 80% nemocných), naproti tomu zvýšení LD přesahuje hodnoty aminotransferáz. 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 ze 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 může jaterní selhání 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 (tetrachlormetan), toxiny (Amanita phalloides), dále akutní ischemie (hypoxie), cirkulační šok, cyanotická srdeční vada, vaskulární okluze.

V laboratorním nálezu je markantní vzestup aminotransferáz více než 40–100násobně (AST převyšuje ALT), vysoká je glutamátdehydrogenáza, laktátdehydrogenáza i GMT; ALP nebývá tak výrazně zvýšena. Charakteristická je hypoglykemie na lačno, snížení albuminu a přede-

vším hypoprotrombinemie (prodloužení Quickova času); stoupá krevní amoniak.

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

Podstatou jaterní encefalopatie je:

- synergismus neurotoxického účinku amoniaku, merkaptanů, mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem a fenolových látek
- porucha permeability hematoencefalické bariéry
- alterace počtu neuronových receptorů a jejich afinity při převodu nervového vzruchu (porucha neurotransmise)
- 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 cytozolu astrocytů přeměnou na glutamin. V počátečním stadiu hyperamonemie syntéza a sekrece glutamátu do synaptické šterbiny stoupá. Vazbou na postsynaptické receptory se zvyšuje excitační odpověď otevřením Na^+/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-aminobutyryát 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 $GABA_A$ -benzodiazepinové receptory, které regulují chloridový kanál. Podstatou inhibiční neurotransmise je pak influx Cl^- s následnou hyperpolarizací postsynaptického neuronu. Tato situace je odpovědná za vznik anxiozity, myorelaxace, hypnózy a kómatu. 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 mozkem. 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 fenyletanolaminu a oktopaminu (falešné neurotransmitery soutěžící o vazebná místa na katecholaminových receptorech).

Vysoký obrát 5-hydroxytryptaminu (z tryptofanu – jeho transport je také porušen) zhoršuje funkci talamu a re-

tikulární 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 metioninu 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 glukóza 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 prekurzor 2-oxoglutarát, který je nezbytnou složkou citrátového cyklu. Nefunkční cyklus nedodává dostatek oxidovaného 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. rok). Byl prokázán vztah k podávání salicylátů u těchto dětí. Jde pravděpodobně o generalizovanou mitochondriální dysfunkci navozenou některými viry nebo toxicky působícími látkami. Aktivita hepatálních mitochondriálních enzymů (ornitin-transkarbamoyláza, karbamoylfosfátsyntáza, pyruvátdehydrogenáza) bývá snížena na méně než 50 % normální aktivity.

V laboratorním nálezu je nápadný rychlý vzestup aminotransferáz 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 je možno rozdělit do pěti stádií (I–V); u většiny pacientů onemocnění dojde maximálně do stadia III (lehké jaterní kóma); u některých však onemocnění progreduje (stadium IV–V), kdy může končit fatálně. Dochází k enormnímu vyplavení enzymů z jater (kromě AST a ALT též glutamátdehydrogenáza), dále laktátdehydrogenázy, kreatinkinázy z kosterního svalstva. Zvýšené jsou aminokyseliny, močová kyselina, mastné kyseliny, u kojenců je tendence k hypoglykemií; je snížena hladina protrombinu 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 ureagenerickém cyklu (deficience karbamoylfosfátsyntetázy, nebo ornitin-transkarbamoylázy), fruktosemie, deficience acyl-CoA-dehydrogenázy, jaterní karnitin-palmitoyltransferá-

zy, 3-hydroxy-3-metylglutaryl-CoA-lyázy. Mezi další vyvolávající agens patří toxiny a léky (hypoglycin A, salicyláty, valproát), hemoragický šok s encefalopatií, infekce nebo intoxikace CNS (meningitis, encefalitis, 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. Hyperbilirubinémie je u novorozenců způsobena řadou příčin. Velmi důležitou známkou je však zvýšení konjugovaného bilirubinu, zejména hned při narození. Zvýšení aminotransferáz není příznačné; u fetální formy jaterního selhání je často katalytická koncentrace normální, na rozdíl od perinatální formy, kde bývá výrazně zvýšena. Koagulopatie a hypoalbuminémie 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 diferenciálně 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 lymfohistiocytóza, neonatální hemochromatóza, podávání valproátu sodného, venookluzní onemocnění).

Fetální nebo neonatální forma (infekce cytomegalovirem, lupus erythematosus, deficiencie 3-oxosteroidreduktázy)

Perinatální forma (infekce viry herpes simplex I nebo II, echovirem 11, coxsakiemi, galaktosemie, šok, tyrosinémie, hereditární intolerance fruktózy).

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
- glukóza, kreatinin, urea, cholesterol, triacylglyceroly
- AMS, celková bílkovina, albumin, AFP, aminokyseliny (Fisherův index)
- krevní obraz, retikulocyty.

V moči:

- aminokyseliny, organické kyseliny, glukóza
- 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 mechanizmy (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 aminotransferáz (<16 µkat/l), hyperbilirubinémie (převažuje konjugovaná frakce) se pohybuje od 35 do 170 µmol/l, ALP bývá normální nebo jen málo zvýšená, IgG je zvýšený, častá je hypoalbuminémie a hypoprotrombinémie; v krevním obraze je často normochromní normocytární anémie, leukopenie a trombocytopenie, zhoršující se při rozvoji portální hypertenze. Cirkulující protilátky (antinukleární, proti hladké svalovině, tyreoglobulinu, 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 autoprotilátky typu LKM. Onemocnění je často kombinováno s jinými autoimunitními chorobami (tyreoiditis, autoimunitní hemolytická anémie, revmatoidní artritida, ulcerózní kolitida, proliferační glomerulonefritida, juvenilní diabetes mellitus, Sjögrenův syndrom).

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

Autoprotilátky

a) Antimitochondriální protilátky (AMA)

Pozitivní jsou u primární biliární cirhózy, chronické aktivní hepatitidy a u syndromu pseudolupus erythematosus. Asi 95 % pacientů s primární biliární cirhózou má zvýšený titr IgG třídy protilátek AMA, což je spojeno s destrukcí malých intrahepatálních žlučovýchodů vedoucí k cholestáze a cirhóze (tabulka 5).

Pro průkaz se užívá jako standardní techniky kryorezů 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: pyruvátdehydrogenázový komplex) – vyskyt až 96 %, u jiných chronických hepatopatií je pozitivita asi 30 %, u systémové sklerózy 7–25 %. Autoantigen M6 je příznačný pro hepatitidu navozenou izoniazidem (u 60 % případů), typ M8 u primární biliární cirhózy (až 55 % případů), typ M9 (glykogenfosforyláza) se vyskytuje u primární biliární cirhózy (asi 50 %), chronické aktivní hepatitidy (10 %), u akutní a chronické virové hepatitidy (3 %).

Tabulka 5. Patologické změny AMA

Onemocnění	Titř (komplement-fixační reakce)	Patofyziologické poznámky
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 titr AMA (zejména s mitochondriální frakcí.)
tyreotoxikóza, Hashimotova struma, Addisonova choroba, perniciózní anémie, myasthenia gravis		2–3 % případů mohou mít AMA pozitivní.

b) Autoprotilátky proti jaterní membráně

Sérum pacientů s autoimunitní formou chronické aktivní hepatitidy reaguje s antigenem získaným z membrány hepatocytů (používá se kupř. hepatocytů z 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 mikrozomálním antigenům (=LKM)
(liver/kidney microsomal antibody)

Vyskytují se v různých variantách: LKM-1, LKM-2, LKM-3 a je možno podle jejich positivity 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 titr než u hepatitid autoimunitních.

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: 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 2000; 46, 2027–2049.

Tabulka 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 hypergammaglobulinemií.

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 (tabulka 6).

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.

3. Laker MF. Liver function tests. British Med. J. 1990; 301: 250.
4. Lebel S, Nakamachi Y, Hemming A, Verjee Z, Phillips MJ, Furuya KN. Glycine conjugation of para-aminobenzoic acid (PABA). J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2003; 36: 62–71.
5. Masopust J. Klinická biochemie – požadování a hodnocení biochemických vyšetření, část I. Karolinum – nakl. Univerzity Karlovy, Praha 1998.