



Έλεγχος Ηπατικής Βιοχημείας, Ανοσολογία, Μοριακός Έλεγχος

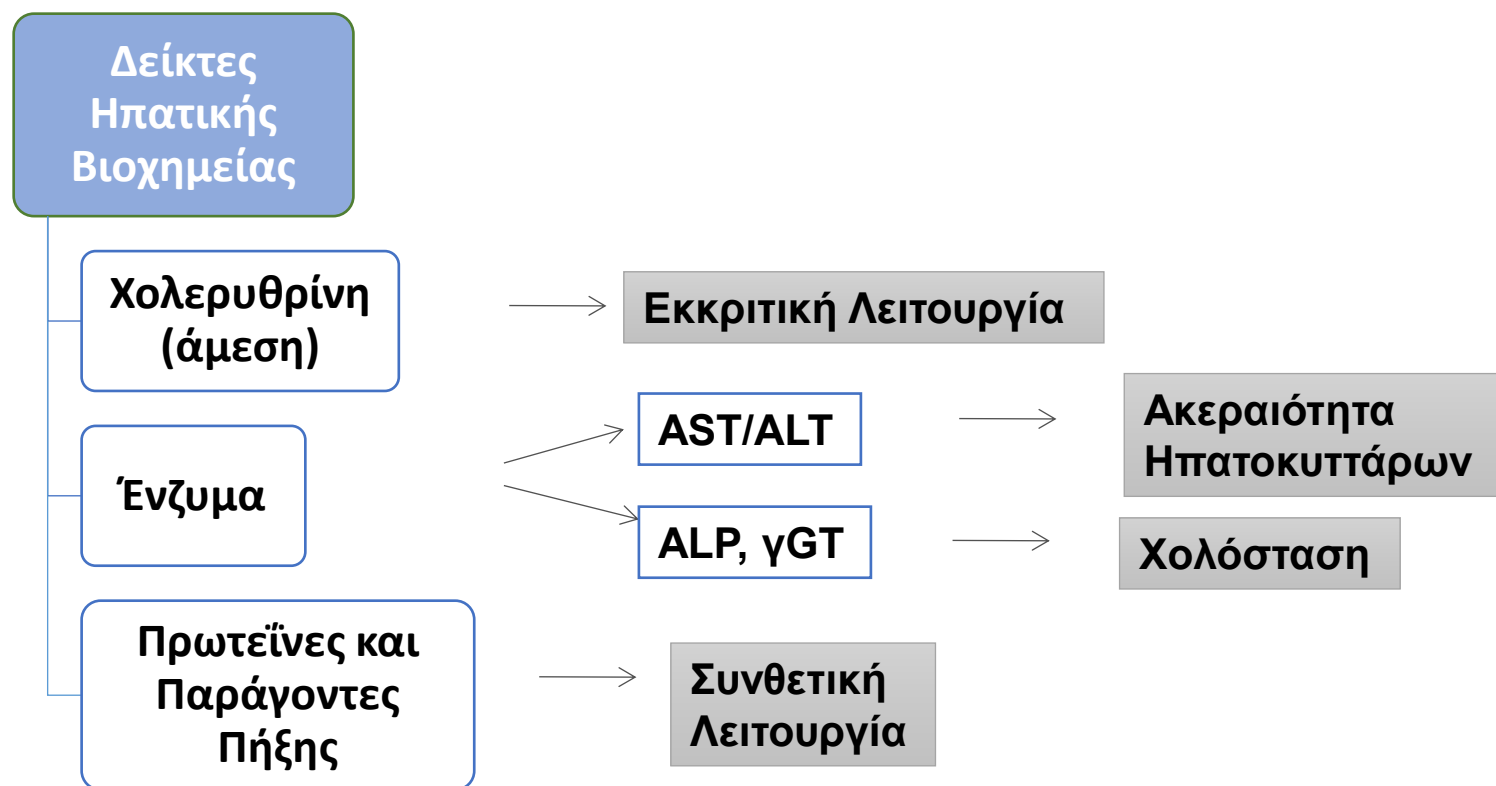
Αιμιλία Στ. Χατζηγιάννη

Καθηγήτρια Ιατρικής Βιοπαθολογίας – Μικροβιολογίας

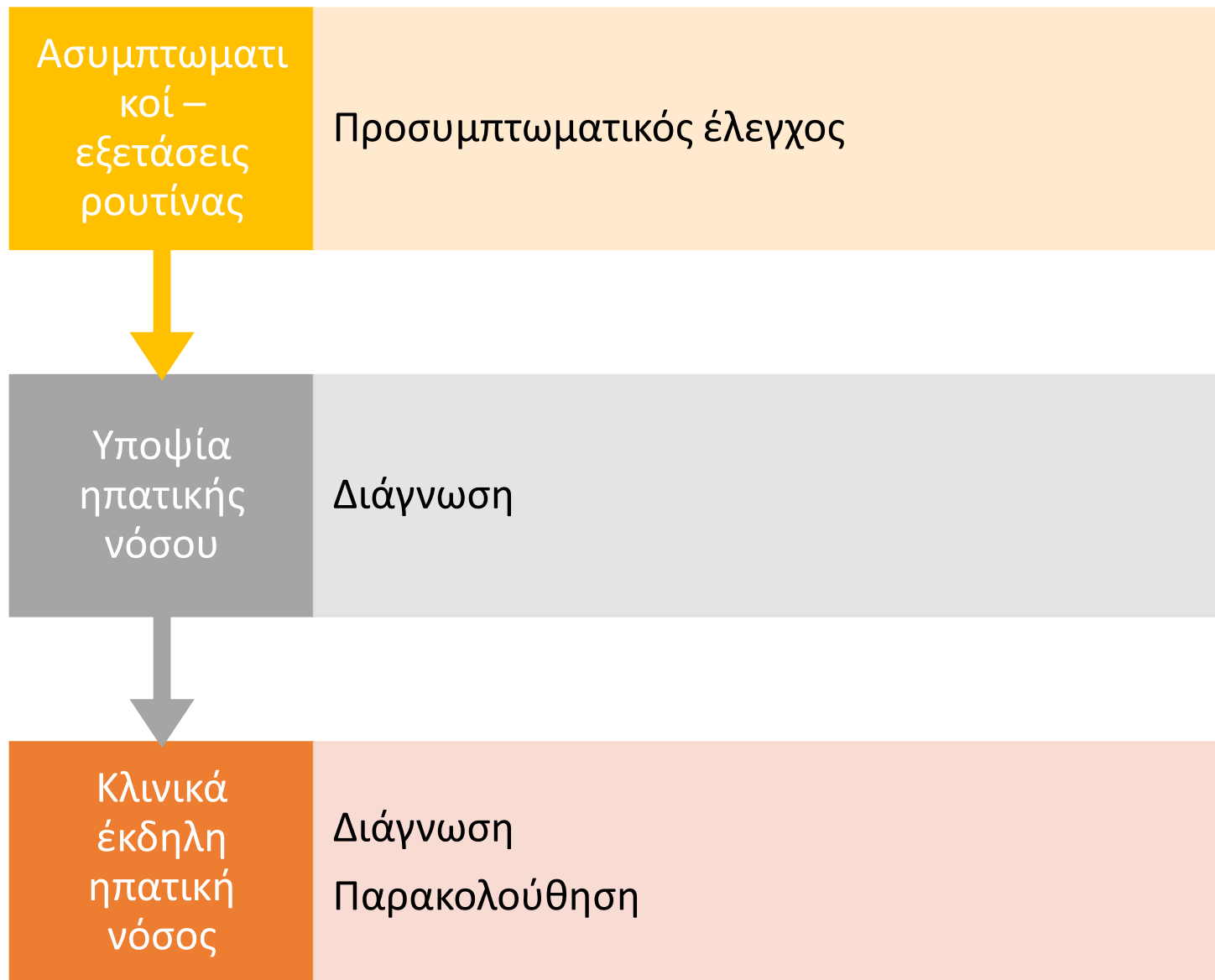
ΒΠΠΚ και Ομώνυμο Εργαστήριο, ΕΚΠΑ

Έλεγχος Ηπατικής Βιοχημείας

- Εξετάσεις που αντανakλούν βλάβη των ηπατοκυττάρων
- Δείκτες χολόστασης
- Δείκτες εκκριτικής ικανότητας του ήπατος
- Δοκιμασίες ελέγχου της συνθετικής του ικανότητας
- Δοκιμασίες μεταβολισμού (με χορήγηση εξωγενών ουσιών)
- Οι εξετάσεις βιοχημείας του ήπατος κυρίως κατευθύνουν για τη διάγνωση



Ποιος Ασθενής Εξετάζεται;;;

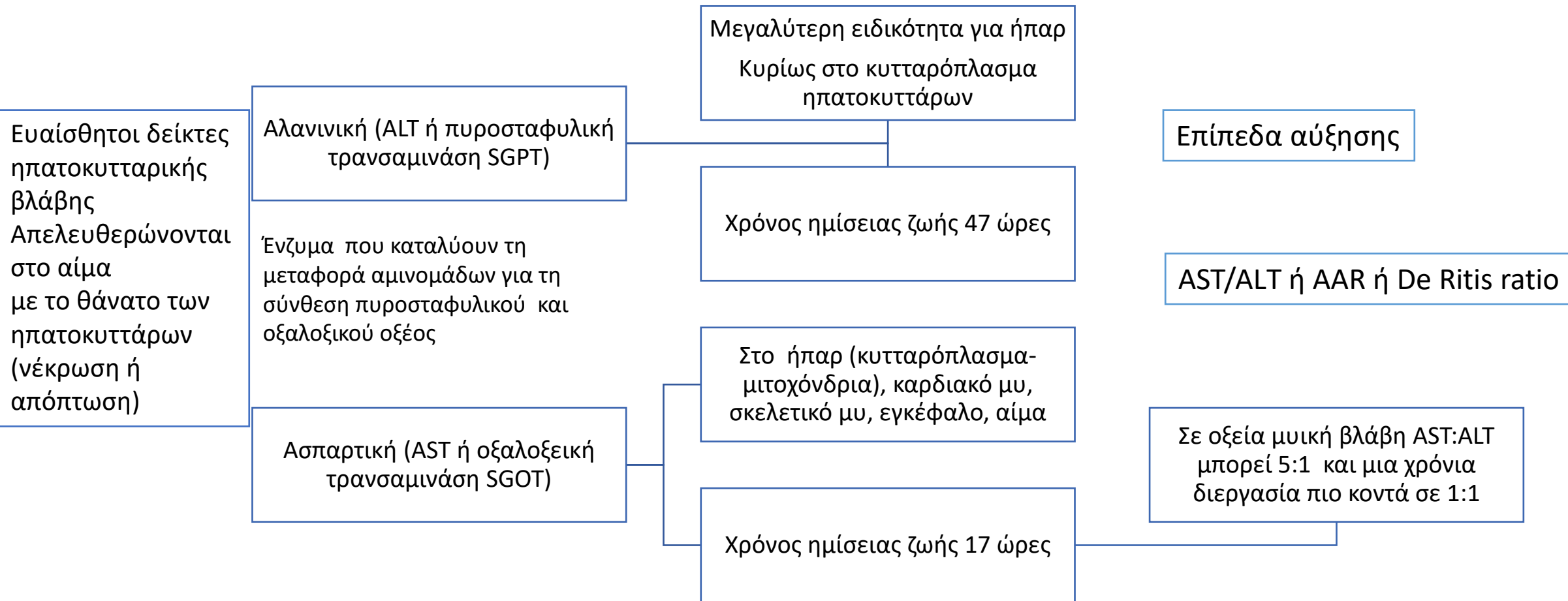


- Καμία εργαστηριακή εξέταση δεν είναι πολύ ευαίσθητη ή ειδική και απαιτείται συνολική εκτίμηση ενός κύκλου εξετάσεων

Εξωηπατική
Πρόελευση

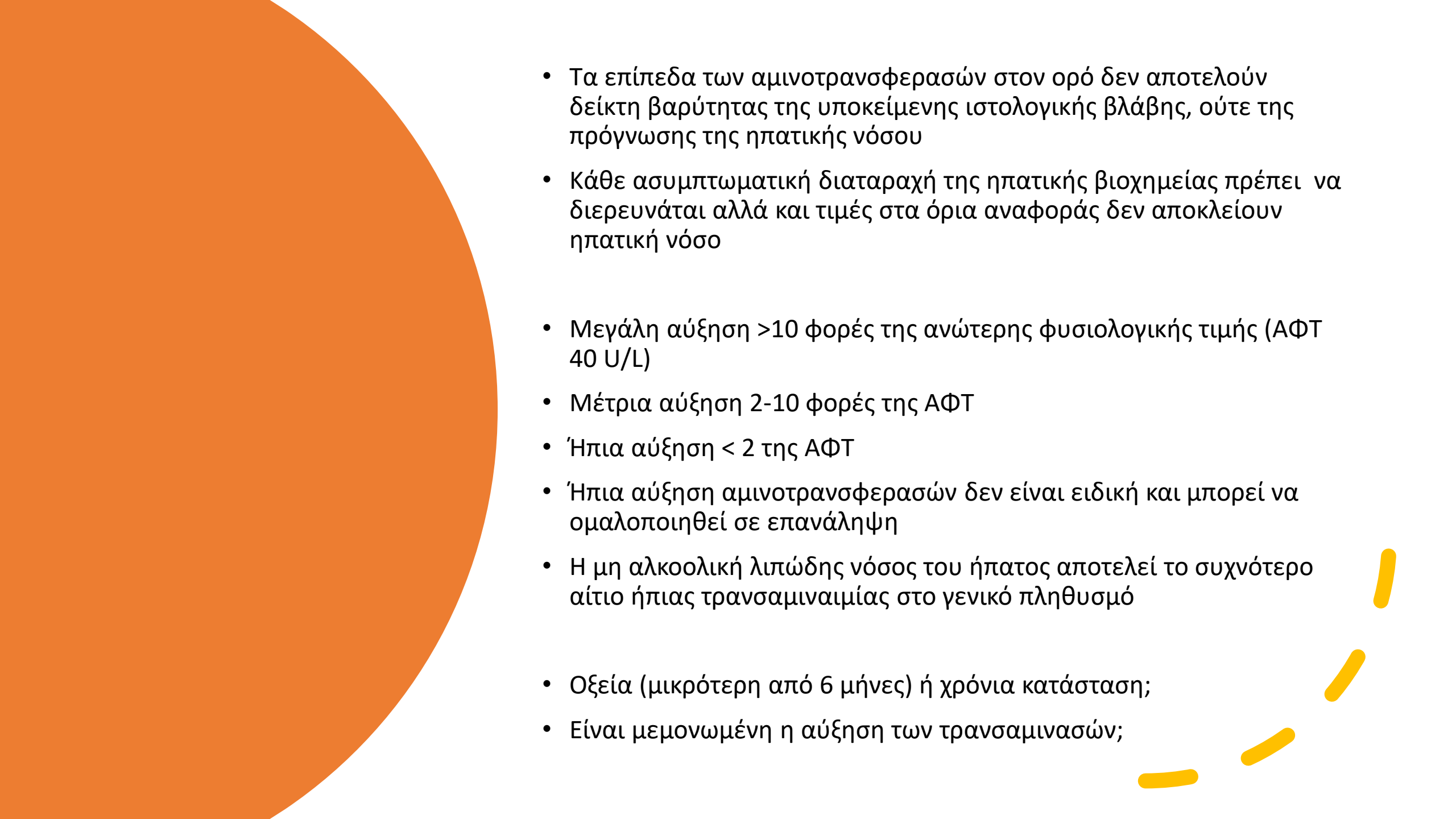
AST-ALT		Αлк. Φωσφατάση	γ-GT	Χολερυθρίνη
Αιμόλυση	Μακροένζυμα	Εντερική (Ο – Β ομ.αιμ)	Οινόπνευμα	Αιμόλυση
Μυική Μυική άσκηση Μυοσίτιδες Έμφραγμα μυοκαρδίου	Υποθυρεο- ειδισμός Υπερθυρεο- ειδισμός	Πλακουντιακή Εγκυμοσύνη	Φάρμακα	Μη αποτελεσματική ερυθροποίηση
Δυσανεξία στη γλουτένη	Θερμοπληξία Προεκλαμψία	Οστική	Μυοκάρδιο	Αιμάτωμα
Διαβητική κετοξέωση, Οξεία παγκρεατίτιδα	Λευχαιμίες			Σήψη

Αμινοτρανσφεράσες (Τρανσαμινάσες)



Ανώτερη φυσιολογική τιμή

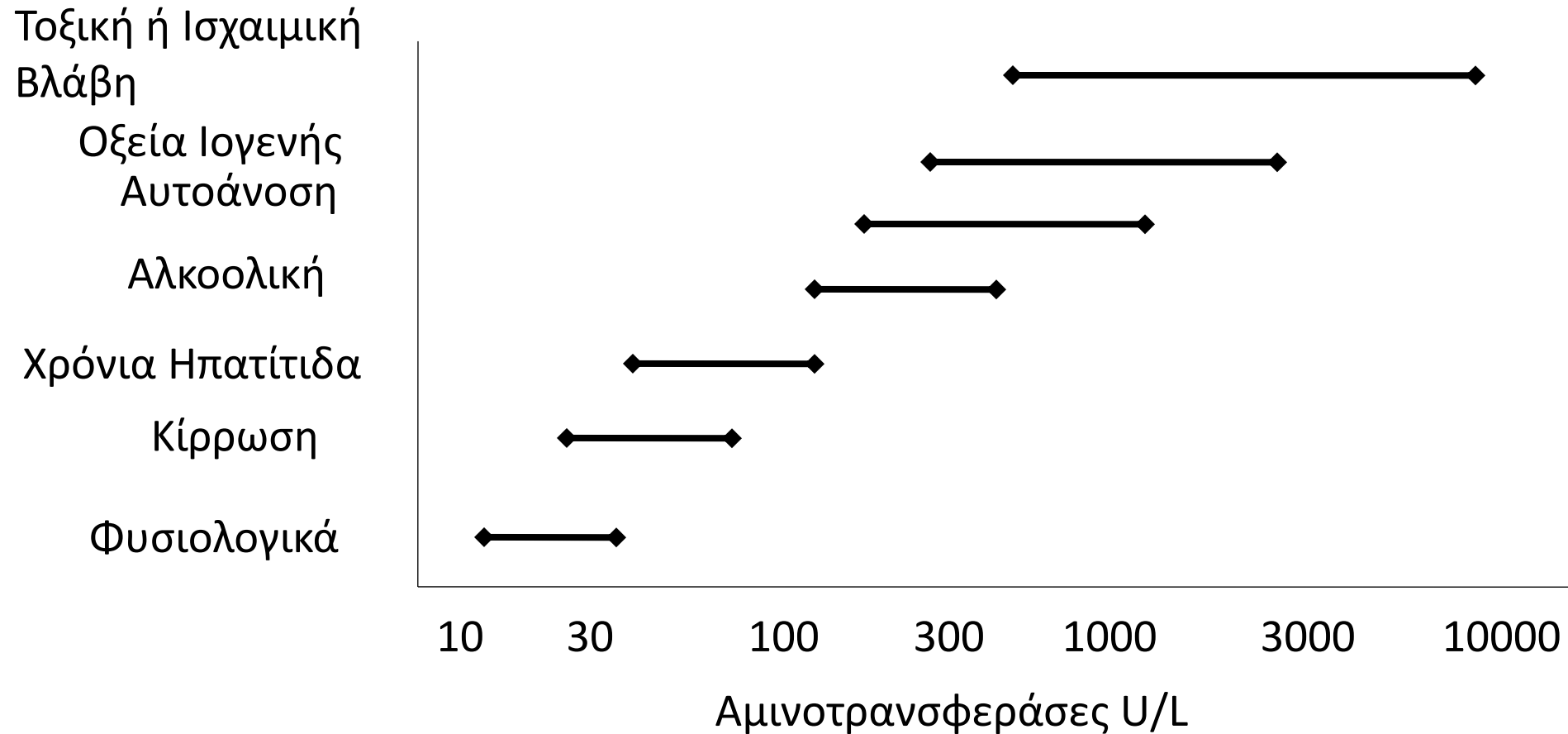
- 40 IU/L (κλασσική τιμή) γυναίκες και άνδρες
- *19-25 IU/L (γυναίκες) & 29-33 IU/L (άνδρες)*

- 
- Τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών στον ορό δεν αποτελούν δείκτη βαρύτητας της υποκείμενης ιστολογικής βλάβης, ούτε της πρόγνωσης της ηπατικής νόσου
 - Κάθε ασυμπτωματική διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας πρέπει να διερευνάται αλλά και τιμές στα όρια αναφοράς δεν αποκλείουν ηπατική νόσο
 - Μεγάλη αύξηση >10 φορές της ανώτερης φυσιολογικής τιμής (ΑΦΤ 40 U/L)
 - Μέτρια αύξηση 2-10 φορές της ΑΦΤ
 - Ήπια αύξηση < 2 της ΑΦΤ
 - Ήπια αύξηση αμινοτρανσφερασών δεν είναι ειδική και μπορεί να ομαλοποιηθεί σε επανάληψη
 - Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος αποτελεί το συχνότερο αίτιο ήπιας τρανσαμιναιμίας στο γενικό πληθυσμό
 - Οξεία (μικρότερη από 6 μήνες) ή χρόνια κατάσταση;
 - Είναι μεμονωμένη η αύξηση των τρανσαμινασών;

Αίτια Αυξημένων Τρανσαμινασών

Συχνά αίτια	Σχετικά σπάνια αίτια	Αρκετά έως εξαιρετικά σπάνια αίτια
Χρήση – κατάχρηση οινόπνεύματος	Αυτοάνοση ηπατίτιδα	Κοιλιοκάκη
Οξείες ή χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες	Υπερθυρεοειδισμός	Αιμοχρωμάτωση (πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής)
NAFLD	Έντονη μυική άσκηση	v. Addison
Φάρμακα, τοξικές ουσίες, συμπληρώματα διατροφής	Νόσος Wilson Ανεπάρκεια α1-αντιθρυψίνης	Κληρονομικές και επίκτητες παθήσεις των μυών

Επίπεδα Αμινοτρασφερών



- Ισχαιμική : AST και ALT $>50 \times \text{A.O.}$
- Οξεία Ιογενής Ηπατίτιδα ή
Τοξική με ίκτερο : AST και ALT $>25 \times \text{A.O.}$
- Αλκοολική Λιπώδης Ν.: AST $<8 \times \text{A.O.}$ ALT $<5 \times \text{A.O.}$
- Μη Αλκοολική Λιπώδης Ν.: AST και ALT $<4 \times \text{A.O.}$
- ΧΗΒ: Διακυμάνσεις
Συνήθως $<2 \times \text{A.O.}$
Σε ενεργοποίηση $>10 \times \text{A.O.}$
- ΧΗC : τυπικά $<2 \times \text{A.O.}$
σπάνια $>10 \times \text{A.O.}$

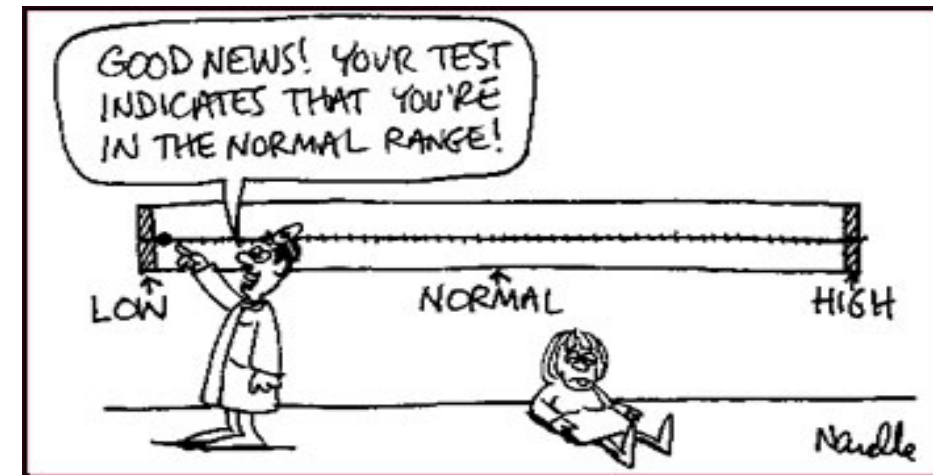
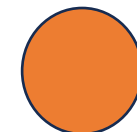


Table 3: Mean serum levels of AST, ALT, De Ritis ratio in cases and control

Disorder	AST (Mean ± Std. Dev.)	ALT (Mean ± Std. Dev.)	De Ritis ratio (Mean ± Std. Dev.)
Control	28.9688 ± 7.12327	27.3125 ± 9.09249	1.0934 ± .13508
ALD	158.3000 ± 71.28084	78.8500 ± 39.71381	2.1253 ± .84766
Viral hepatitis	74.6500 ± 49.14883	94.4000 ± 59.87214	.8006 ± .14811
NAFLD	105.0500 ± 174.87243	96.1500 ± 174.55998	1.2204 ± .17954
Cholestasis	34.4000 ± 12.13992	31.2000 ± 13.02817	1.1378 ± .18045
<i>P</i> value	0.000	0.011	0.000

Parmar et al. International Journal of Medical Science and Public Health 2016

AST/ALT > 1
Alcoholic liver disease
Cirrhosis (of any etiology)
Ischemic hepatitis
Congestive hepatopathy
Acute Budd-Chiari syndrome
Hepatic artery damage/thrombosis/occlusion
TPN



Δείκτες Χολόστασης

Αλκαλική

Φωσφατάση

>80% ήπαρ-οστά

Αυξημένη σύνθεση σε
χολόσταση >3-5X

Μειωμένη σε
υποθυρεοειδισμό,
ανεπάρκεια Zn, κακοήγη
μεγαλοβλαστική αναιμία

$t_{1/2} = 3-7d$

γGT

Ευαίσθητος αλλά όχι
ειδικός δείκτης: ↑
νεφρική ανεπάρκεια,
έμφραγμα μυοκαρδίου,
παγκρεατική νόσο, ΣΔ,
φάρμακα

**Επιβεβαιώνει την
ηπατική ↑ ALP**

$t_{1/2} = 7-26 \text{ days}$

Πρώτοι βιοχημικοί δείκτες, συχνά σε ασυμπτωματικούς ασθενείς

- Ασυμπτωματικοί ασθενείς με αύξηση **ALP** και/ή **γGT**

- **Μόνο** ↑ **γGT** μικρή ειδικότητα

- Όρια που χρήζουν διαγνωστική διερεύνηση ? >2-3 ULN

- **Μόνο** ↑ **ALP** σε χολόσταση και σε διαταραχές στη σύνθεση χολικών οξέων

- ΠΡΟΣΟΧΗ ΟΣΤΑ – ΠΛΑΚΟΥΝΤΑΣ

- Όρια που χρήζουν διαγνωστική διερεύνηση >1.5-2 ULN

- **Μεγάλη** αύξηση **ALP** >1,000 IU/L χωρίς ίκτερο: Διήθηση ήπατος



AST- ALT-ALP

Κατάταξη σε 3 ευρείες κατηγορίες

Εξετάσεις	Κατηγορία Ηπατικής Νόσου		
	Ηπατοκύτταρο	Χολόσταση	Διήθηση
AST, ALT υψηλότερες από ALP	Τυπικό		
ALP υψηλότερη από AST, ALT		Τυπικό	
Αύξηση ALP με σχεδόν φυσιολογικές AST, ALT		Τυπικό	Τυπικό



R ratio:

$(\text{ALT value}/\text{ALT ULN}) / (\text{ALP value}/\text{ALP ULN})$

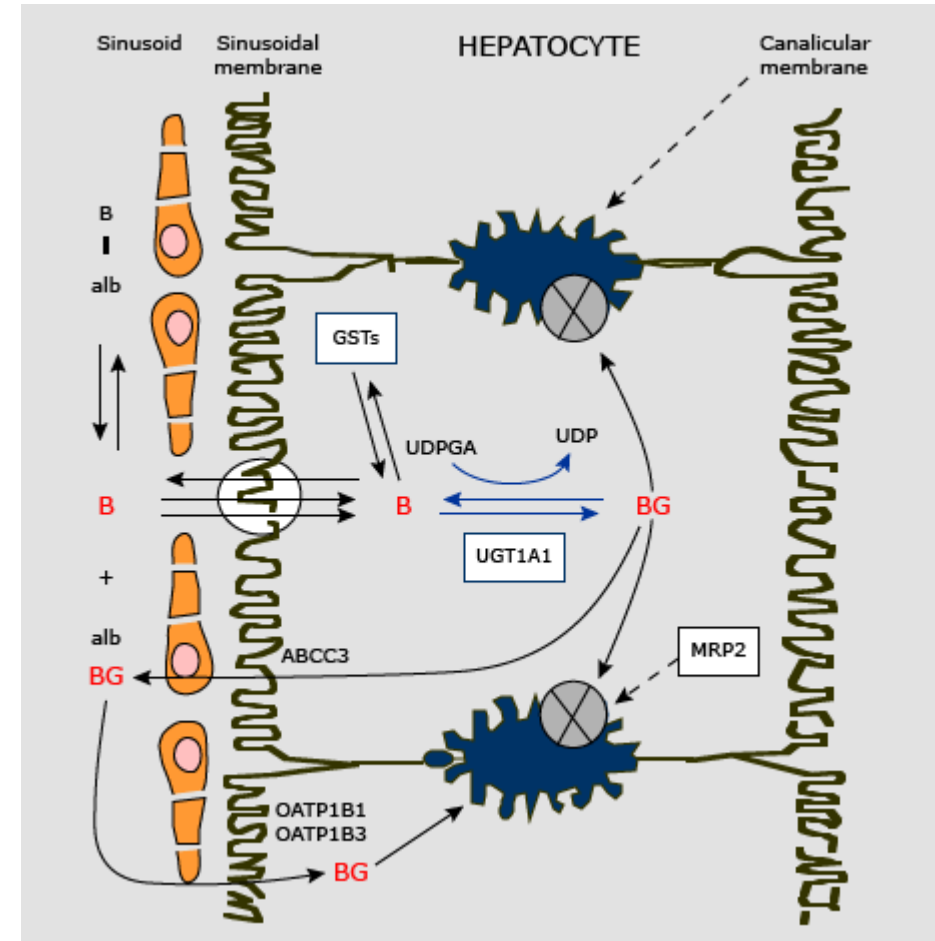
> 5 = ηπατοκυτταρική βλάβη

< 2 = χολοστατική βλάβη

2-5 = μικτό πρότυπο

Χολερυθρίνη

- Αύξηση της άμεσης χολερυθρίνης: μεγάλη ειδικότητα για ηπατική και νόσο χοληφόρων - περιλαμβάνει δ-χολερυθρίνη (+αλβουμίνη)
- Διαφορές στο ίδιο άτομο 15-30%
- ↑ x 1-2 σε νηστεία 48 ωρών
- Άσκηση ↑ 30 % (άνδρες)
- Αιμόλυση
- Αντισυλληπτικά ↓
- 33% και 15% χαμηλότερη σε γυναίκες και άνδρες μαύρης φυλής
- Φωτοευαίσθητη ↓ 50% σε 1 ώρα



2024 UpToDate, Inc.

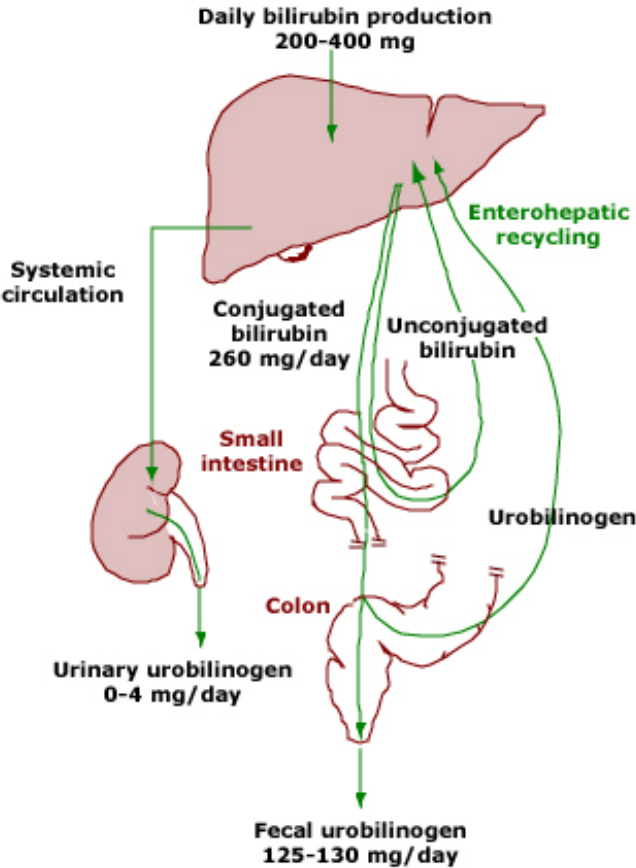
Classification of jaundice according to type of bile pigment and mechanism

Unconjugated hyperbilirubinemia	Conjugated hyperbilirubinemia (continued)
Increased bilirubin production*	Extrahepatic cholestasis (biliary obstruction)
Extravascular hemolysis	Choledocholithiasis
Extravasation of blood into tissues	Intrinsic and extrinsic tumors (eg, cholangiocarcinoma, pancreatic cancer)
Intravascular hemolysis	Primary sclerosing cholangitis
Dyserythropoiesis	AIDS cholangiopathy
Wilson disease	Acute and chronic pancreatitis
Impaired hepatic bilirubin uptake	Strictures after invasive procedures
Heart failure	Certain parasitic infections (eg, <i>Ascaris lumbricoides</i> , liver flukes)
Portosystemic shunts	Intrahepatic cholestasis
Some patients with Gilbert syndrome	Viral hepatitis
Certain drugs¶ – Rifampin, probenecid, flavaspadic acid, bunamiodyl	Alcohol-associated hepatitis
Impaired bilirubin conjugation	Non-alcohol-associated steatohepatitis
Crigler-Najjar syndrome types I and II	Chronic hepatitis
Gilbert syndrome	Primary biliary cholangitis
Neonates	Drugs and toxins (eg, alkylated steroids, chlorpromazine, herbal medications [eg, Jamaican bush tea], arsenic)
Hyperthyroidism	Sepsis and hypoperfusion states
Ethinyl estradiol	Infiltrative diseases (eg, amyloidosis, lymphoma, sarcoidosis, tuberculosis)
Liver diseases – Chronic hepatitis, advanced cirrhosis	Total parenteral nutrition
Conjugated hyperbilirubinemia	Postoperative cholestasis
Defect of canalicular organic anion transport	Following organ transplantation
Dubin-Johnson syndrome	Hepatic crisis in sickle cell disease
Defect of sinusoidal reuptake of conjugated bilirubin	Pregnancy
Rotor syndrome	End-stage liver disease

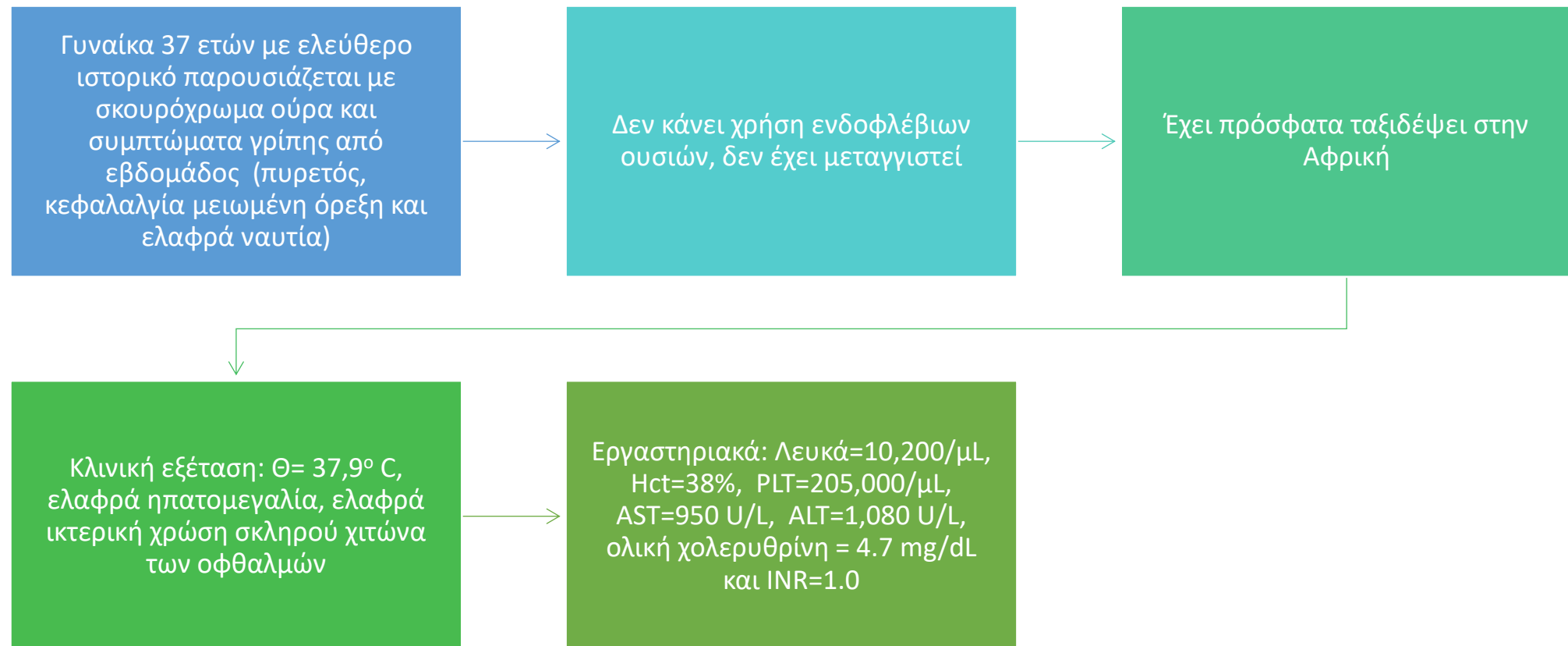
AIDS: acquired immunodeficiency syndrome.

* Serum bilirubin concentration is usually less than 4 mg/dL (68 mmol/L) in the absence of underlying liver disease.

¶ The hyperbilirubinemia induced by drugs usually resolves within 48 hours after the drug is discontinued.

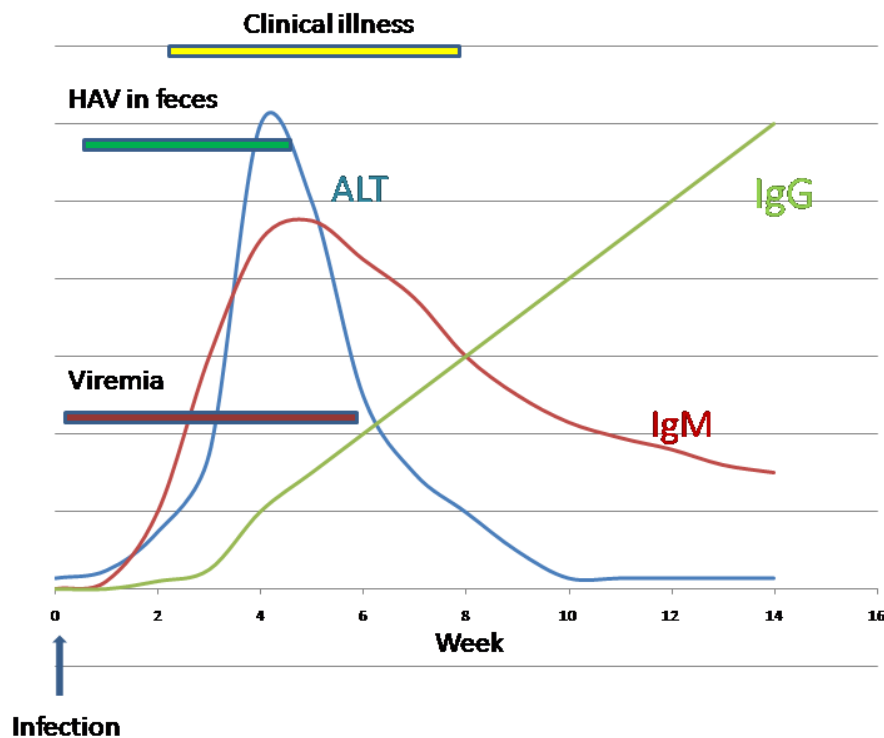


Περίπτωση

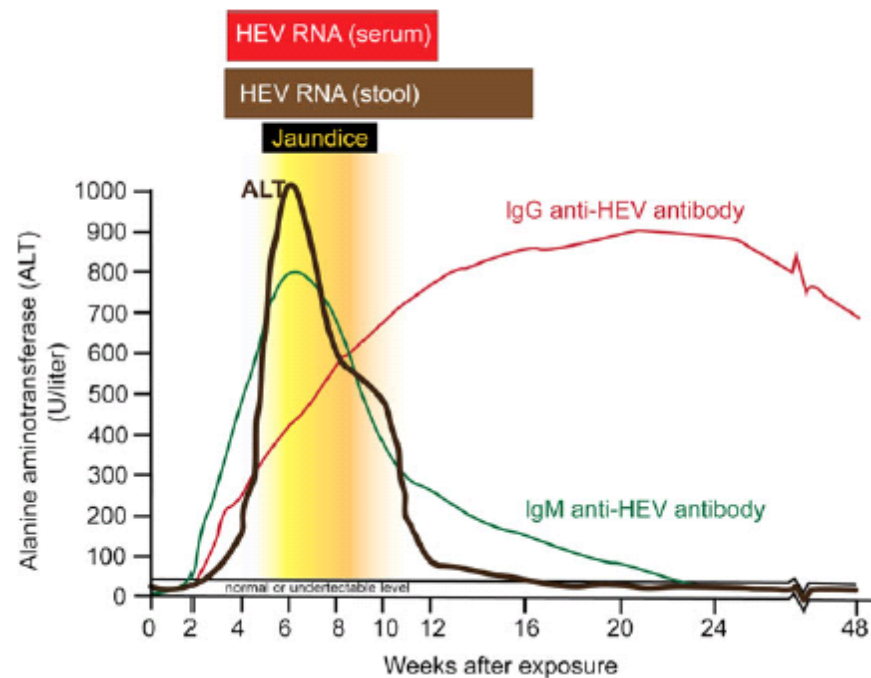


Έλεγχος για Οξεία Ιογενή Ηπατίδα (1)

HAV: IgM αντισώματα

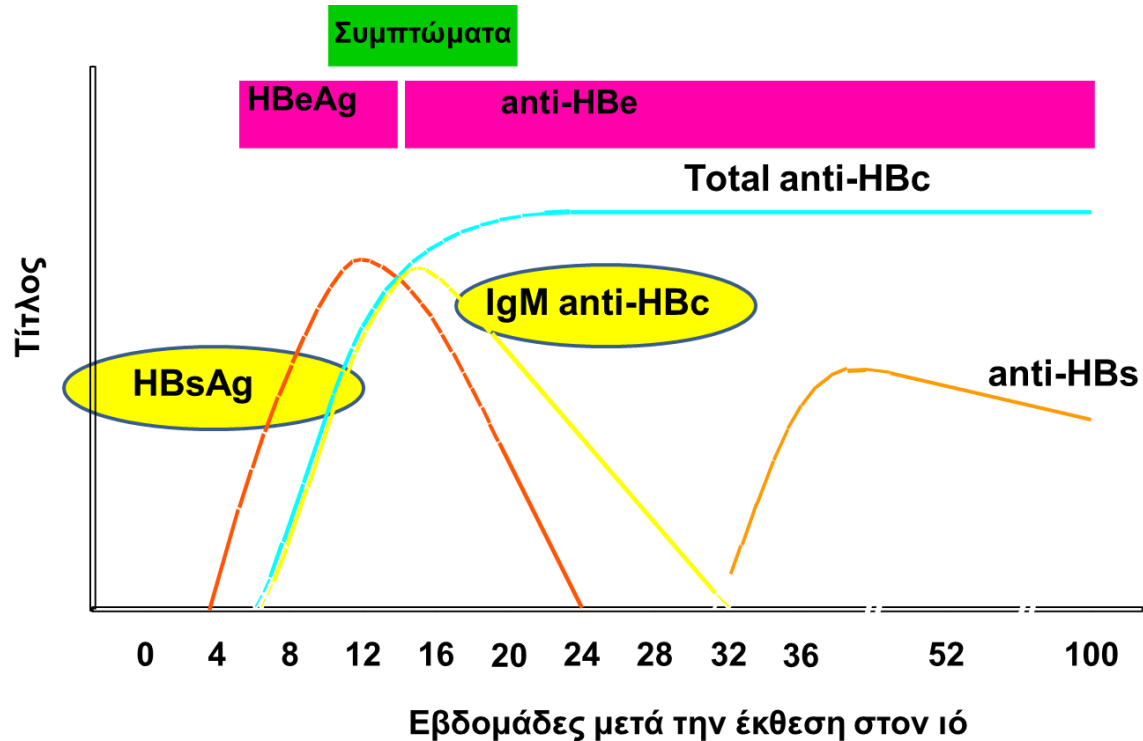


HEV: IgM αντισώματα και HEV RNA



Έλεγχος για Οξεία Ιογενή Ηπατίδα (2)

HBV



HBsAg	anti-HBc	anti-HBs	IgM anti-HBc	Αξιολόγηση
Θετικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	Οξεία λοίμωξη

Ορολογική Διάγνωση Ηπατίτιδας Β

HBsAg	anti-HBc	anti-HBs	IgM anti-HBc	Αξιολόγηση
Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό		Ευπαθής
Αρνητικό	Θετικό	Θετικό		Παλαιά λοίμωξη
Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό		Εμβολιασμός
Θετικό	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	Οξεία λοίμωξη
Θετικό	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Χρόνια λοίμωξη HBeAg / Anti-HBe
Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Ασαφές: 1. Λύση φυσικής λοίμωξης (πιο συχνά) 2. Ψευδώς +: Ευπαθής 3. Κρυπτική HBV λοίμωξη 4. Λύση οξείας λοίμωξης (παράθυρο)

Έλεγχος για HDV

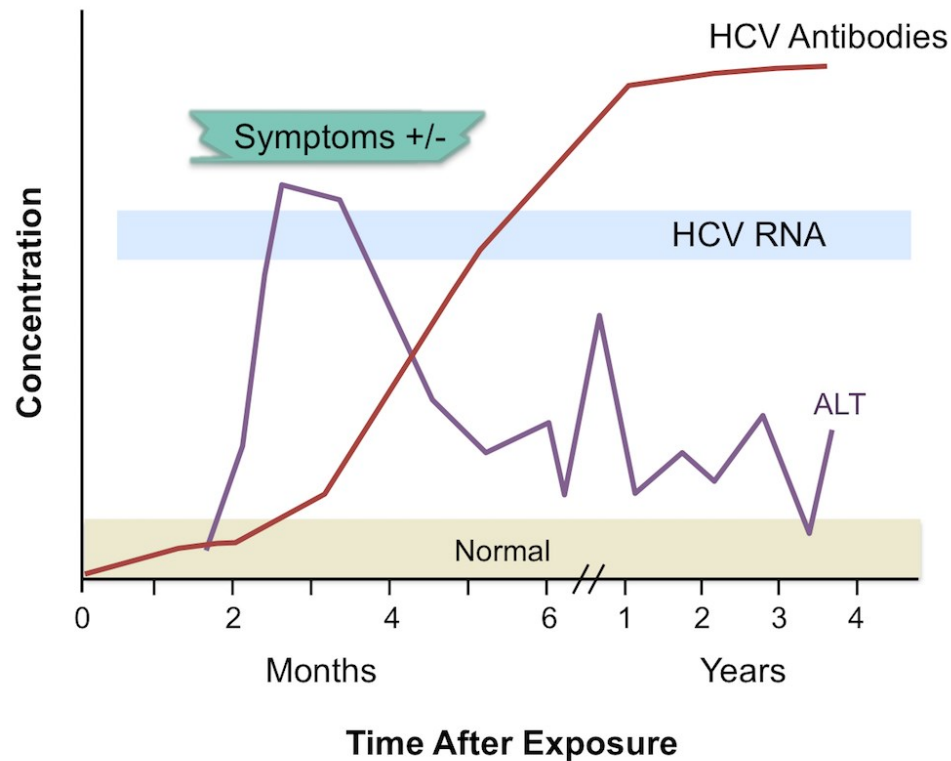
- Έμμεση διάγνωση μέσω αντισωμάτων **IgG και IgM**
- Χρόνια ηπατίτιδα δ: IgG και IgM anti-HDV
- Η ανίχνευση του **HDV RNA με PCR** είναι η πιο αξιόπιστη μέθοδος διάγνωσης ειδικά σε αρχική φάση της λοίμωξης

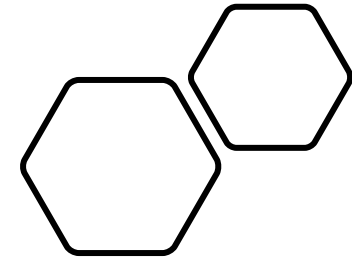
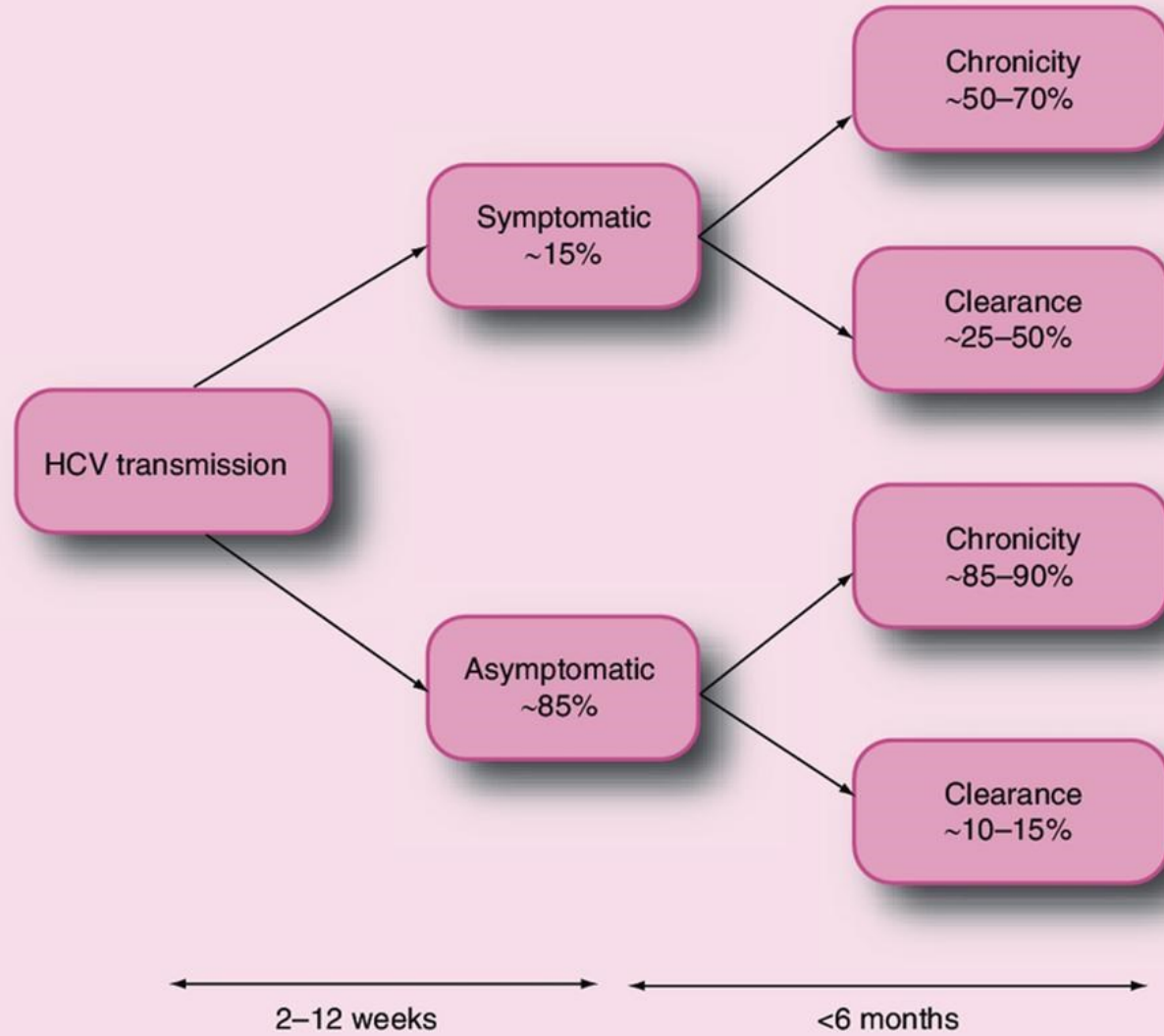


Έλεγχος για Οξεία Ιογενή Ηπατίδα (3)

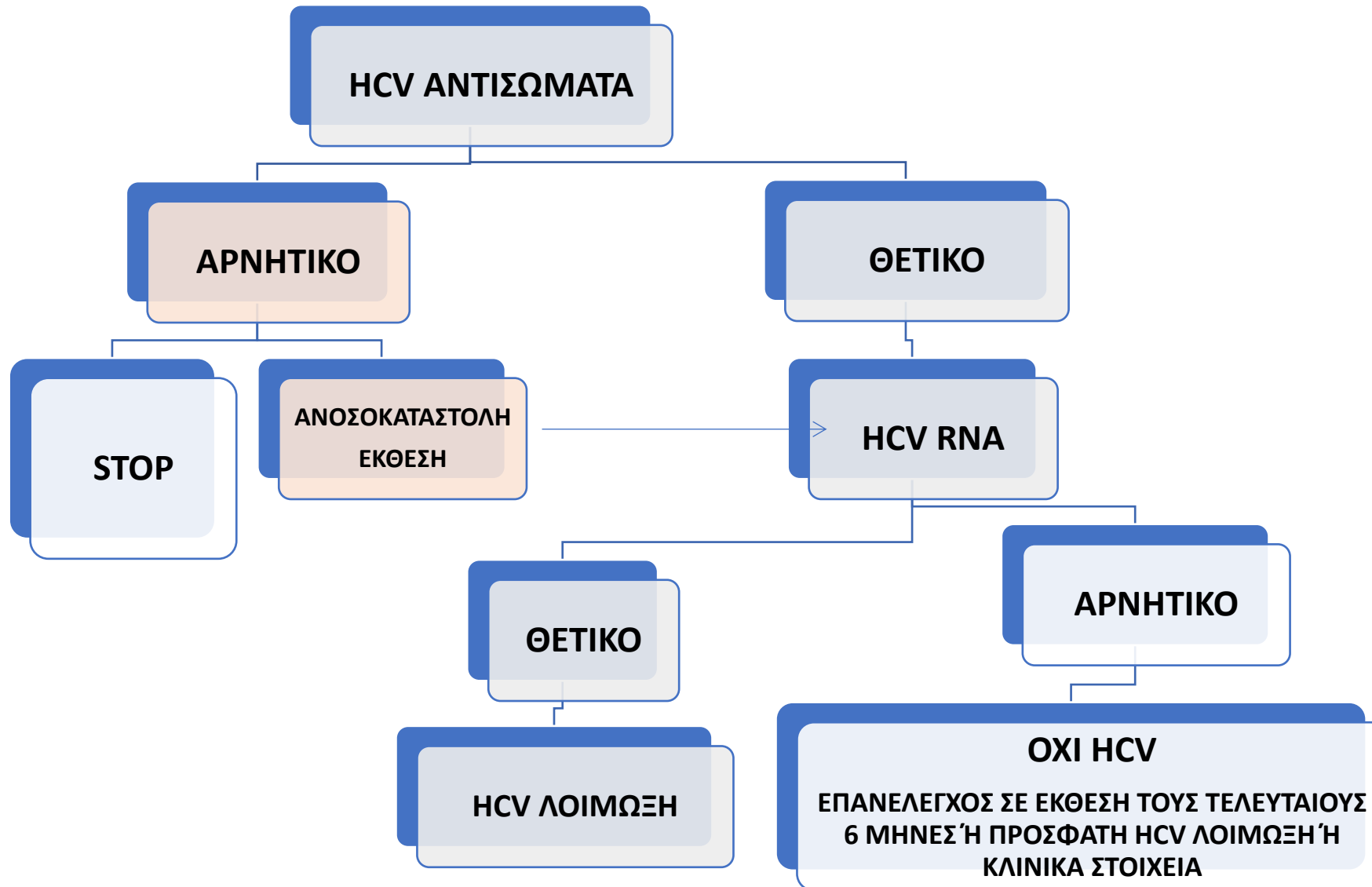
Διάγνωση Οξείας Ηπατίτιδας C : ΣΠΑΝΙΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ

HCV RNA + , Anti-HCV +/- (προηγούμενο πρόσφατο anti-HCV -), ↑ALT

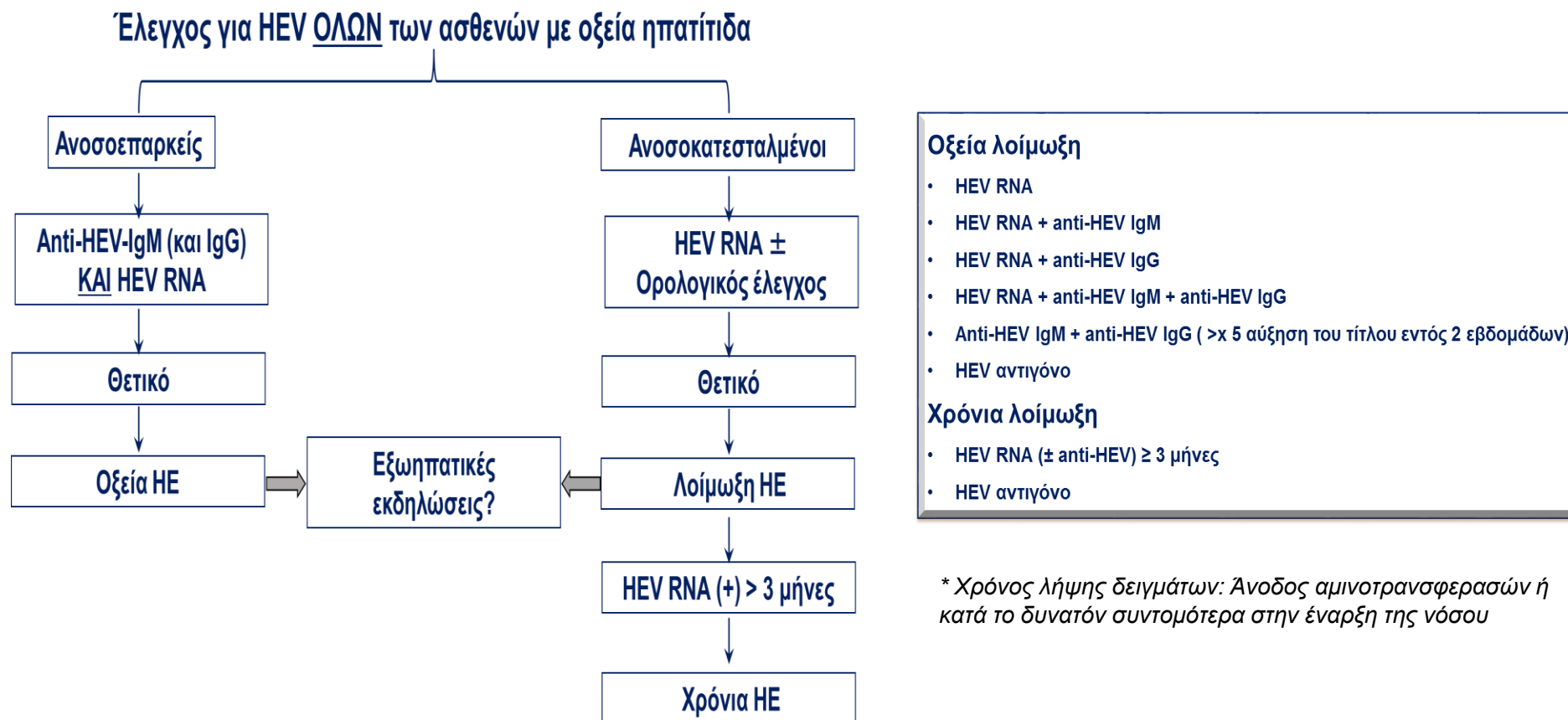




Εργαστηριακή Διάγνωση HCV Λοίμωξης



Διαγνωστικός αλγόριθμος Ηπατίτιδα Ε



EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. J Hepatol. 2018 Jun;68(6):1256-1271, ECDC Options for national testing and surveillance for hepatitis E virus in the EU/EEA 2019

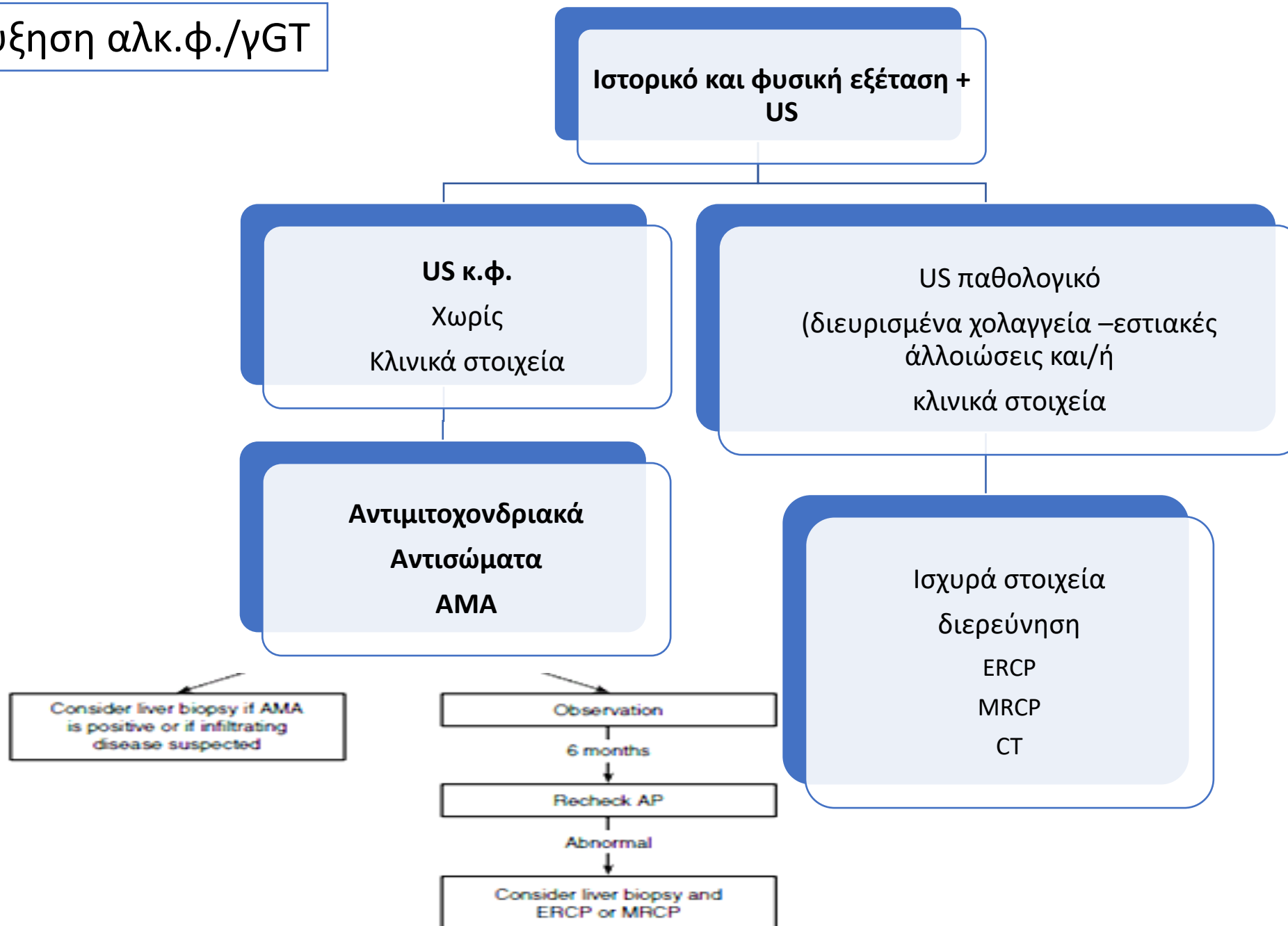
AST/ALT (0.5 - 50x UNL)
Bilirubin (0.5 - 50x UNL)
γ-σφαιρίνες (IgG, 1.1 – 5.0x UNL)
ALP κ.φ. ή μέτρια αυξημένη

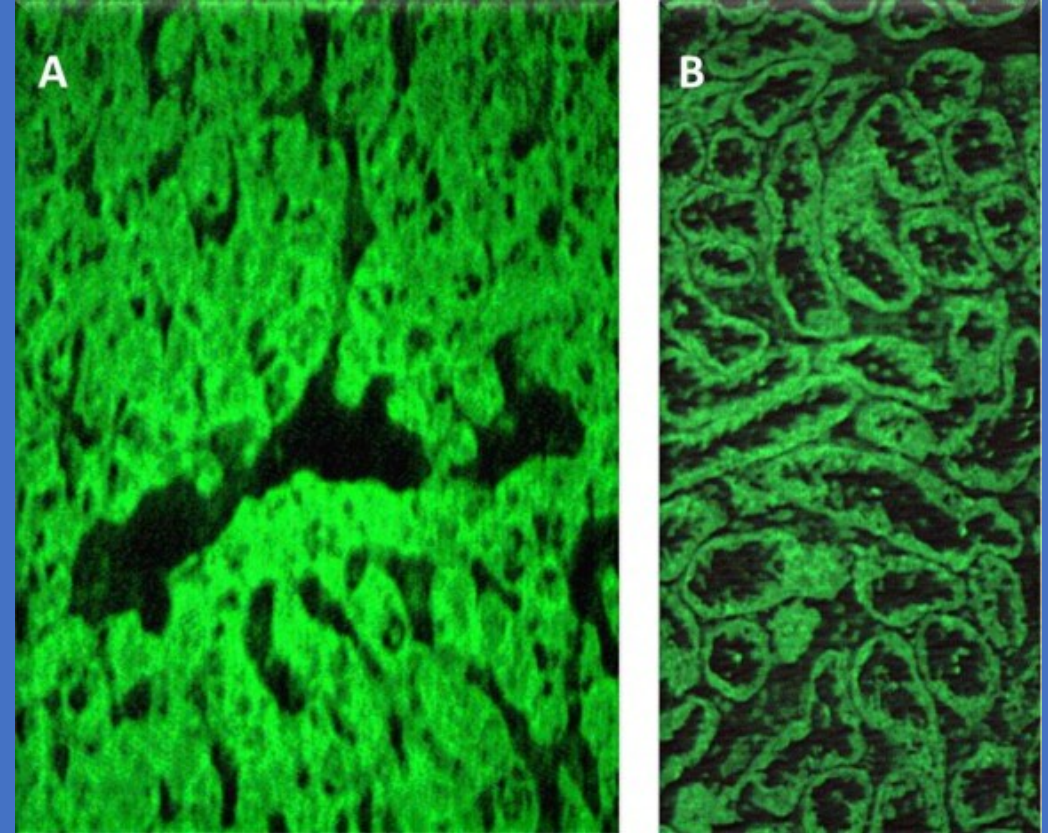
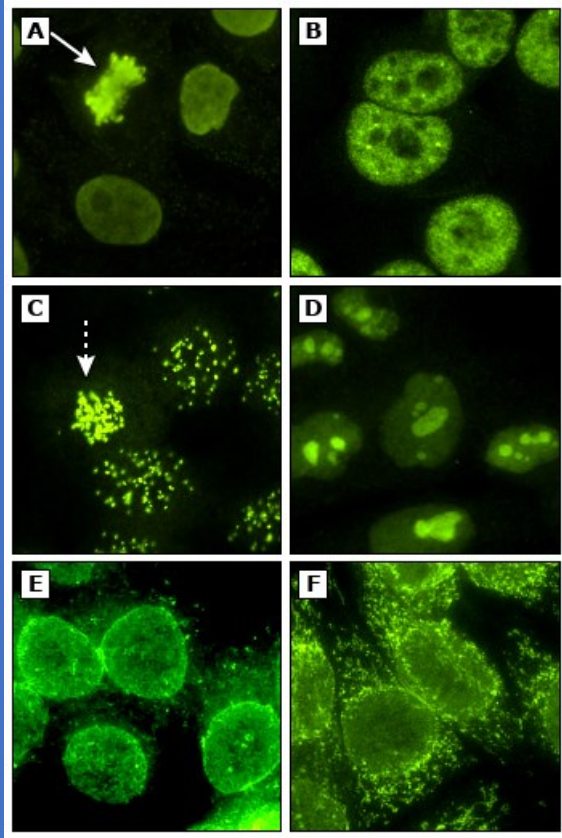
**The simplified criteria for the diagnosis of AIH
– update of serological criteria**

Variable	Cutoff	Points
ANA or SMA/F-actin	Positive ¹	1
ANA or SMA/F-actin or LKM or SLA	Strongly positive ² ≥1:40 Positive	2
IgG	>Upper normal limit >1.1 times upper normal limit	1 2
Liver histology (with evidence of hepatitis)	Compatible with AIH Typical AIH	1 2
Absence of viral hepatitis	Yes	2
		≥6: probable AIH ≥7: definite AIH

¹IFT: ≥1:40 when assessed on tissue sections; ≥1:80 or 1:160 for ANA when assessed on HEp-2 cells, depending on local standards. ELISA with cut-offs validated locally;
²IFT: ≥1:80 when assessed on tissue sections; ≥1:160 or 1:320 for ANA when assessed on HEp-2 cells. ELISA with cut-offs validated locally;
Note: If ELISA-based autoantibody assessment is negative despite of a high clinical suspicion for autoimmune hepatitis, IFT should be performed

Αύξηση αλκ.φ./γGT





Αυτοαντισώματα

Νόσημα	AMA				ANA	LKM	SMA	ANCA
	M2	M4	M8	M9				
PBC	++	+	(+)	(+)	++	+	+	-
CAH	-	-	-	-	+++	++	++	++
PSC	-	-	-	(+)	-	-	-	++
Αλκοολική CAH	-	-	-	(+)	(+)			-
Φαρμακευτική CAH	-	-	-	-	+	-	+	-

Αυτοάνοσα Νοσήματα

	<u>LFT</u>	<u>Αυτοαντισώματα</u>	<u>Ανοσοσφαιρίνες</u>
AIH	↑ ALT	ANA ASMA	↑ IgG
PBC	↑ ALP	AMA	↑ IgM
PSC	↑ ALP	none	normal

Αυτοαντισώματα και Χρόνιες Ηπατοπάθειες

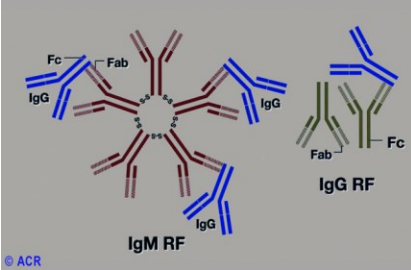
- Αυτοάνοση ηπατίτιδα
 - Αντιπυρηνικά αντισώματα /ANA
 - Έναντι λείων μυικών ιών / SMA
- Πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα
 - Αντιμιτοχονδριακά αντισώματα / AMA
- Η αύξηση της γ σφαιρίνης συχνά οδηγεί στην ανίχνευση χαμηλού τίτλου αυτοαντισωμάτων άνευ κλινικής σημασίας
- Στην χρόνια ηπατίτιδα C ανιχνεύονται συχνά αυτοαντισώματα και κρυοσφαιρίνες (40-60 %) (σύνδρομο μικτής κρυοσφαιριναιμίας)



Κρυοσφαιρίνες

- Ανοσοσφαιρίνες που καθιζάνουν σε χαμηλές θερμοκρασίες 4 °C- Τύπου I, II, III
- Σύνδρομο μικτής κρυοσφαιριναιμίας (II-III)
 - - Χρόνια ηπατίτιδα C (80 – 90 %)
 - - Σύνδρομο Sjögren
 - - ΣΕΛ
 - - ΡΑ
 - - Λοιμώξεις (ενδοκαρδίτιδα/HIV)
 - - Λεμφουπερπλαστικά νοσήματα





Ρευματοειδής παράγοντας

Ρευματικές παθήσεις	%
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	50 – 90
ΣΕΛ	15 – 35
Σύνδρομο Sjogren	20 – 30
Σκληροδερμία	20 – 30
Πολυμυοσίτιδα/Δερματομυοσίτιδα	2 – 10
Υγιή άτομα (> 60)	5 – 25
Λοιμώξεις	
Ενδοκαρδίτιδα	25 – 50
<u>Ηπατίτιδα C</u>	<u>40</u>
Ιογενείς λοιμώξεις (παροδικά +)	15 – 65
Άλλες παθήσεις	3 - 70

Μοριακός Έλεγχος

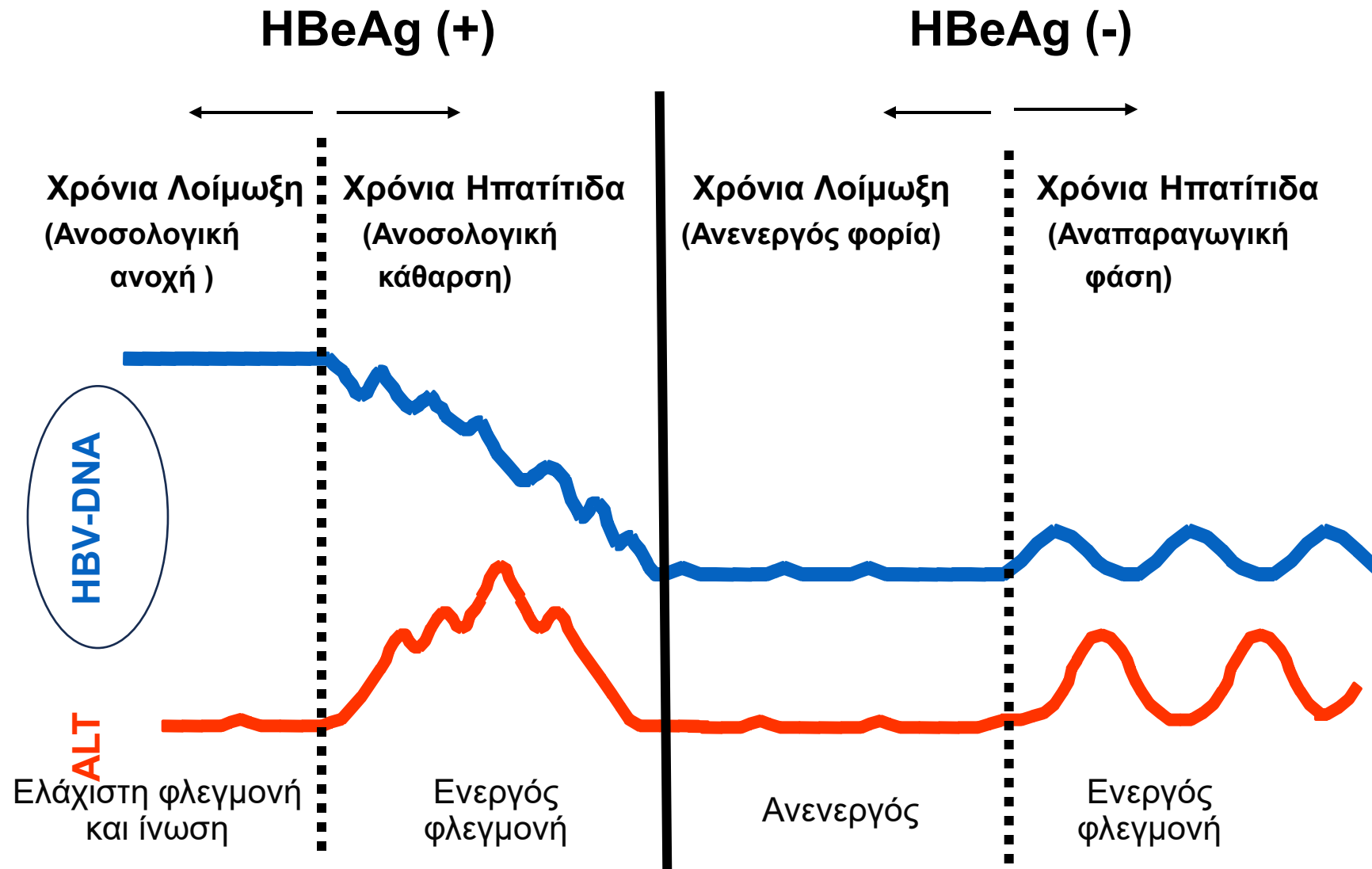
- Εξετάσεις με μεθόδους Μοριακής Βιολογίας
 - **Ανίχνευση γενετικού υλικού (DNA/RNA)**
 - Ευαίσθητη και ποσοτική
 - **Μελέτη αλληλουχιών νουκλεοτιδίων**
 - Γονότυποι
 - Πολυμορφισμοί



Εφαρμογές στα Νοσήματα του Ήπατος

- Γενετικά νοσήματα
- Ιογενείς Ηπατίτιδες
 - Ιικό φορτίο
 - Ιική αντοχή
 - Γονότυποι

Χρόνια Ηπατίτιδα Β – HBV DNA



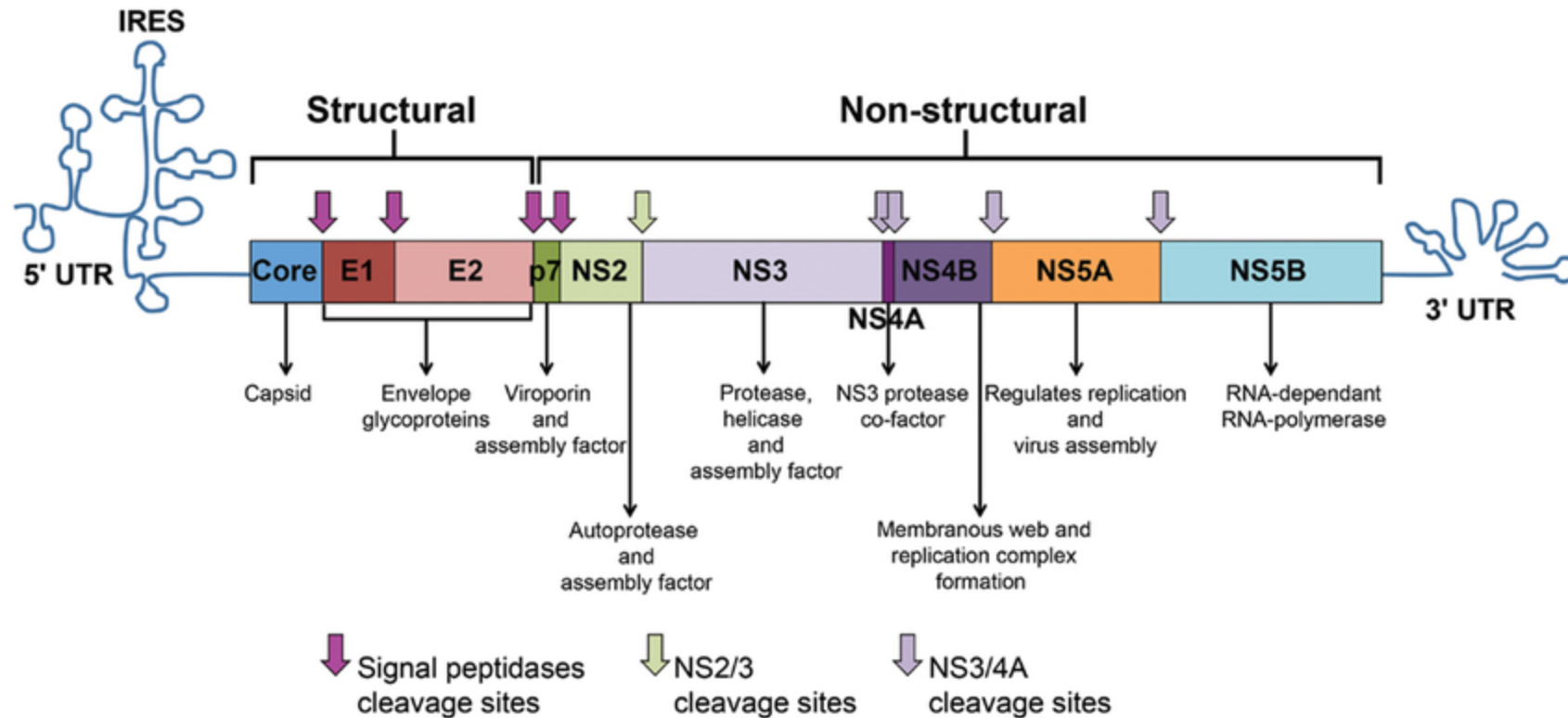
ΕΝΑΡΞΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Οδηγίες	HBeAg +			HBeAg -		
	HBV DNA, IU/mL	ALT	Liver Disease	HBV DNA, IU/mL	ALT	Liver Disease
AASLD ^[1]	> 20,000	≥ 2 x ULN	N/A	> 2000	≥ 2 x ULN	N/A
	N/A	N/A	Κίρρωση	N/A	N/A	Κίρρωση
EASL ^[2]	> 2000	> ULN*	Μέτρια φλεγμονή ή ίνωση*	> 2000	> ULN*	Μέτρια φλεγμονή ή ίνωση*
	> 20,000	> 2 x ULN	N/A	> 20,000	> 2 x ULN	N/A
	N/A	N/A	Κίρρωση	N/A	N/A	Κίρρωση

*In pts with HBV DNA > 2000 IU/mL, treatment indicated if ALT > ULN and/or at least moderate fibrosis.
 1. Terrault NA, et al. Hepatology. 2016;63:261-283. 2. EASL. J Hepatol. 2017;67:370-398.

Ιολογική απόκριση	↓ HBV DNA σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα με PCR και αρνητικό HBeAg σε ασθενείς που ήταν αρχικά θετικοί
Βιοχημική απόκριση	↓ ALT στα φυσιολογικά όρια
Πλήρης απόκριση	Βιοχημική και ιολογική απόκριση συν απώλεια του HBsAg

HCV RNA – η ανίχνευσή του επιβεβαιώνει τη λοίμωξη



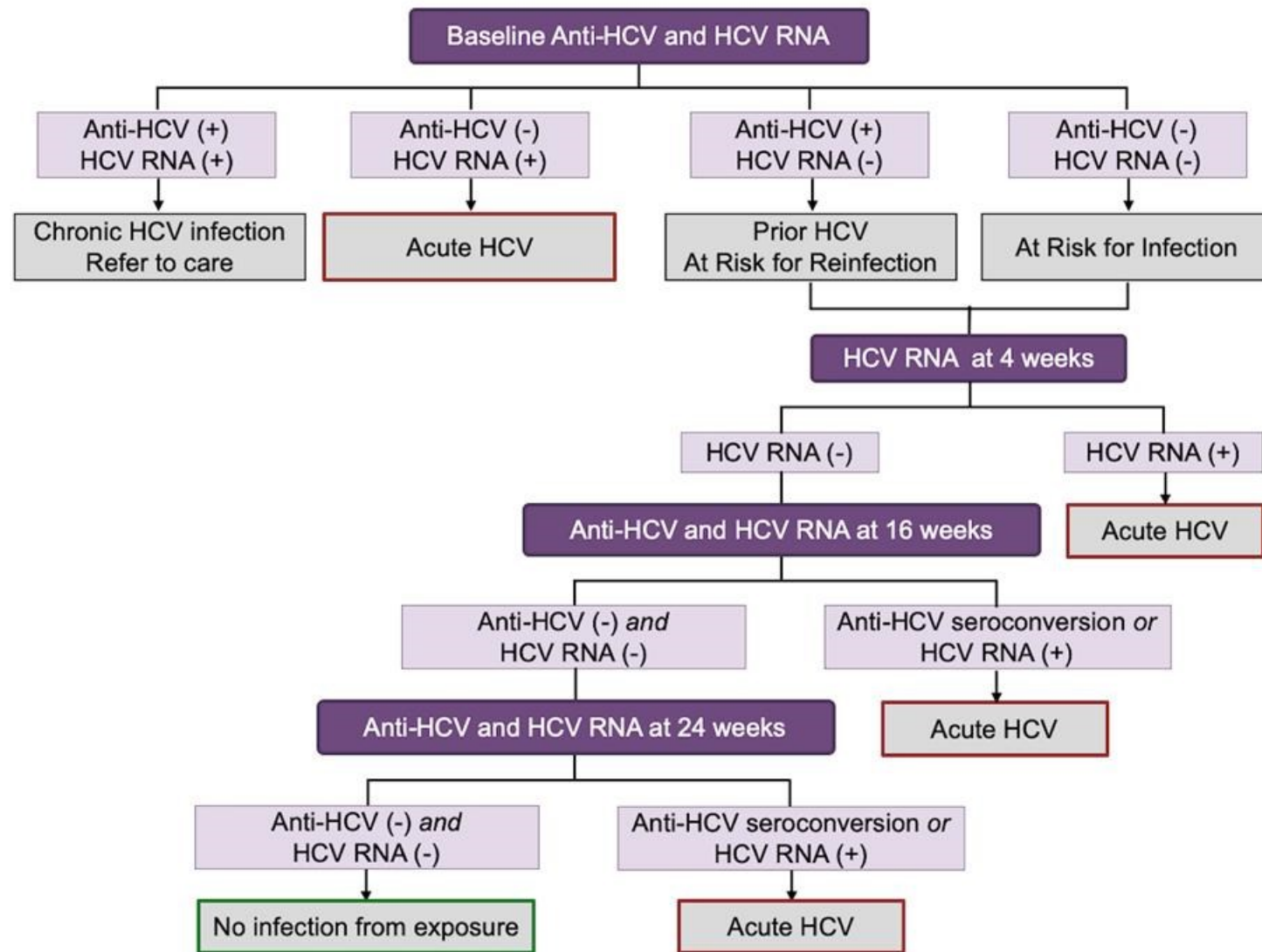


TABLE 1: Inherited liver diseases that predispose to early cirrhosis.

Disease	Incidence	Gene
Disorders of bile acid synthesis		
Wilson disease	1: 30,000	<i>ATP7B</i>
Progressive familial intrahepatic cholestasis type 3	1: 100,000	<i>ABCB4</i>
Disorders of carbohydrate metabolism		
Hereditary fructose intolerance	1: 20,000	<i>ALDOB</i>
Glycogen storage disease type IV	1: 600,000	<i>GBE1</i>
Disorders of amino acids metabolism		
Tyrosinemia type I	1: 100,000	<i>FAH</i>
Urea cycle disorders		
Argininosuccinate lyase deficiency	1: 70,000	<i>ASL</i>
Citrin deficiency (CTLN2, NICCD)	CTLN2 1: 100,000 NICCD 1: 19,000	<i>SLC25A13</i>
Disorders of lipid metabolism		
Cholesteryl ester storage disease	1: 40,000 (Germany) 1: 300,000–1: 500,000	<i>LIPA</i>
Other diseases		
Alpha-1 antitrypsin deficiency	1: 2,000–1: 5,000	<i>SERPINA1</i>
Cystic fibrosis	1: 2,500	<i>CFTR</i>
Hereditary hemochromatosis	1: 250	<i>HFE</i>
Alström syndrome	1: 1,000,000	<i>ALMS1</i>
Congenital hepatic fibrosis	1: 20,000	Unknown

