

## VYUŽITIE IZOENZÝMOV GAMAGLUTAMYLTRANSFERÁZY V DIFERENCIÁCII CHRONICKÝCH OCHORENÍ PEČENE

TURECKÝ L., <sup>1</sup>KUPČOVÁ V., <sup>2</sup>LAKTIŠ K., UHLÍKOVÁ E., <sup>1</sup>SZÁNTOVÁ M.

### GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE ISOENZYMES IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CHRONIC LIVER DISEASES

Serum gamma-glutamyltransferase (GMT) is prevalently of hepatic origin, and its activity has long been known to be increased in most patients with hepatobiliary diseases. The different isoforms of GMT in serum, particularly those found in the course of hepatobiliary diseases, are associated with various lipoproteins. An important fraction of GMT activity is associated with apoprotein B in patients with icteric or anicteric cholestasis. We have studied the association of GMT activity with LDL and VLDL lipoproteins in patients with chronic liver diseases and the possibility to use this laboratory test in discriminating liver malignancies from other liver diseases.

Thirty-eight healthy subjects, aged between 19 and 45 years, and 38 patients with liver cirrhosis, 7 with liver tumor, 16 with chronic active hepatitis and 5 with primary biliary cirrhosis were studied. Serum GMT activity complexed with LDL+VLDL was estimated according to Sacchetti et al.

A cut-off of 40 U.l<sup>-1</sup> of GMT complexed with VLDL+LDL results in a diagnostic sensitivity of 85 % for liver tumor patients, and a diagnostic specificity of 87 % and 65 % towards the chronic active hepatitis or liver cirrhosis, respectively. According to our results, this test could be a useful contribution to laboratory tests that serve to discriminate chronic hepatopathies from liver malignancies. Our results are in agreement with the results published by Sacchetti et al. 1988, 167—172). (Tab. 1, Fig. 1, Ref. 15.)

**Key words:** gamma-glutamyltransferase, isoenzymes, liver tumors, liver cirrhosis.

*Bratisl Lek Listy 1997; 98: 137–140*

Gamaglutamyltransferáza (GMT) je enzým nachádzajúci sa v rôznych orgánoch ľudského tela, jeho sérová aktivita je však takmer výhradne hepatálneho pôvodu. Poznatok, že aktivita sérovej GMT sa zvyšuje pri ochoreniach pečene, je dobre známy už dlhšie. Za heterogenitu sérovej GMT aspoň sčasti zodpovedá väzba enzýmu na plazmatické lipoproteíny. Významná časť celkovej aktivity GMT je u pacientov s cholestatickými ochoreniami pečene viazaná na apoproteín B. V našej práci sme študovali aktivitu GMT viazanú na lipoproteíny LDL+VLDL u pacientov s chronickými ochoreniami pečene so zameraním na diferenciáciu nádorových a nenádorových ochorení pečene.

Vyšetrovaný súbor tvorilo 38 zdravých dobrovoľníkov, vo veku 19—45 rokov a 38 pacientov s cirhózou pečene, 7 s nádorovým postihnutím pečene, 16 s chronickou aktívnou hepatitídou a 5 s primárnou biliárnou cirhózou. Aktivitu GMT sme stanovovali po precipitácii VLDL+LDL zmesou kyseliny fosfowolframovej a chloridu horečnatého metódou podľa Sacchettiho a spol.

Pri použití diskriminačnej hranice na úrovni 40 U.l<sup>-1</sup>, GMT viazanej na VLDL+LDL malo vyšetrenie u pacientov s nádorovým postihnutím pečene diagnostickú senzitivitu 85 % a diagnostickú špecificitu 87 % voči skupine chronických hepatitíd a 65 % voči skupine cirhóz.

Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, že vyšetrenie aktivity GMT viazanej na VLDL+LDL by mohlo byť vhodným príspevkom k diferenciálnej diagnostike nádorových a nenádorových postihnutí pečene. Naše zistenia boli v dobrej zhode s výsledkami, ktoré publikovali Sacchetti a spol. (Tab. 1, obr. 1, lit. 15.)

**Kľúčové slová:** gamaglutamyltransferáza, izoenzymy, nádory pečene, cirhóza pečene.

*Bratisl. lek. Listy, 98, 1997, č. 3, s. 137–140*

Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, <sup>1</sup>III. interná klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a <sup>2</sup>Klinika infektológie a geografickej medicíny Dérerovej nemocnice v Bratislave  
Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Medical School, Comenius University, Bratislava, <sup>1</sup>The IIIrd Internal Clinic, Medical School, Comenius University, Bratislava, <sup>2</sup>Clinic of Infectology and Geographic Medicine, Derer's Hospital, Bratislava  
**Address for correspondence:** L. Turecký, MD, Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LFUK, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovakia. Phone: +421.7.5264569, Fax: +421.7.368304

Gamaglutamyltransferáza (GMT) (EC 2.3.2.2) je glykoproteín nachádzajúci sa v rôznych tkanivách a orgánoch ľudského tela. Napriek tejto pomerne ubikvitárnej distribúcii v jednotlivých orgánoch ľudského tela je sérová aktivita GMT takmer výhradne hepatálneho pôvodu (Greiling a Gressner, 1987). Pečeňová gamaglutamyltransferáza je membránovo-viazaný enzým nachádzajúci sa v kanalikulárnom segmente plazmatickej membrány hepatocytov a v membránach hladkého endoplazmatického retikula. Sérová GMT nie je homogénny proteín, ale vyskytuje sa vo viacerých

**Tab. 1. Senzitivita, špecificita a diagnostická účinnosť vyšetrenia sérovej aktivity GMT viazanej na VLDL+LDL pri diferenciácii nádorového postihnutia pečene od ostatných hepatopatií pri diskriminačnej hranici 20 U.l<sup>-1</sup> a 40 U.l<sup>-1</sup> (L.S. = hodnoty z práce Sacchettiho a spol., 1988).**

**Tab. 1. Diagnostic sensitivity, specificity and efficiency of serum GMT complexed with LDL+VLDL calculated for liver malignancies toward other groups of subjects at a cut-off level of 20 U.l<sup>-1</sup> and 40 U.l<sup>-1</sup> (L.S. = diagnostic parameters published by Sacchetti et al., 1988).**

Súbory Subjects	Diskriminačná hranica Cut-off level of GMT (U.l <sup>-1</sup> )	Senzitivita Sensitivity (%)	Špecificita Specificity (%)	Dg účinnosť Efficiency (%)
tumors	L.S. 20	84	100	92
vs	20	85	100	95
controls	40	85	100	95
tumors	L.S. 20	84	87	85
vs	20	85	50	57
CAH	40	85	87	85
tumors	L.S. 20	84	78	80
vs	20	85	29	36
cirrhosis	40	85	65	67
tumors	L.S. 20	84	80	81
vs	20	85	36	40
CAH+CiH	40	85	72	73
tumors	20	85	20	33
vs PBC	40	85	40	50

CAH - chronická aktívna hepatitída  
chronic active hepatitis

CiH - cirhóza pečene  
liver cirrhosis

PBC - primárna biliárna cirhóza  
primary biliary cirrhosis

izoformách odlišujúcich sa hlavne štruktúrou glykozidovej časti molekuly (Shaw a spol., 1980). Jednotlivé izoformy sú dimérmí zloženými z dvoch odlišných monomérov, ktoré pochádzajú z jedného „propeptidu“ modifikovaného proteolýzou (Capraro a Hughey, 1983). Polypeptidová časť GMT je teda kódovaná len jedným génom a heterogenita jednotlivých izoformiem je dôsledkom posttranslačnej modifikácie. V rámci posttranslačných úprav sa simultánne uplatňujú: a) väzba GMT na rôzne komponenty séra, napríklad lipoproteíny (Artur a spol., 1984), b) rôzny stupeň sialylácie molekuly enzýmu (Kojima a spol., 1980) a c) limitovaná proteolýza (Huseby, 1982).

Poznatok, že aktivita sérovej GMT sa zvyšuje pri rôznych pečenných ochoreniach, je dobre známy už dlhšie. Zvýšenie sérovej aktivity GMT patrí medzi najcitlivejšie indikátory hepatobiliárneho ochorenia a zvýšené hodnoty zisťujeme pri postihnutí hepatocytov, ako aj pri intrahepatálnej a extrahepatálnej cholestáze (Dzúrik a spol., 1990). Takmer v 95 % prípadov týchto poškodení sa zvyšuje sérová aktivita tohto enzýmu, ale bez výraznejšej špecificity voči niektorému typu pečenného ochorenia (Greiling a Gressner, 1987). Stanovenie celkovej aktivity GMT teda nie je výraznejšou pomocou v diferenciálnej diagnostike hepatobiliárnych ochorení (Ellis a spol., 1979).

Určitým východiskom, ako zvýšiť špecificitu vyšetrenia GMT, by bolo vyšetrenie jej izoenzymov. Elektroforetické techniky používané pre separáciu jednotlivých izoenzymov sú technicky ná-

ročnejšie, hlavne z hľadiska vizualizácie rozdelených frakcií, takže sa nevelmi hodia pre rutinne využitie v diagnostike. Sacchetti a spol. (1988) prezentovali pomerne jednoduchú metódu na stanovenie aktivity GMT viazanej na jednotlivé lipoproteínové frakcie séra a možnosť jej využitia v diferenciálnej diagnostike chronických hepatopatií. V našej práci sme sa snažili overiť si použiteľnosť tejto metódy pre zlepšenie diferenciácie chronických hepatopatií, so zameraním na diferenciáciu nádorových a nenádorových ochorení pečene.

### Pacienti a metódy

Kontrolný súbor tvorilo 38 zdravých jedincov (18 žien a 20 mužov), darcov krvi, vo veku 19–45 rokov. Súbor pacientov tvorilo 62 ľudí, z toho 16 s chronickou aktívnou hepatitídou, 34 s cirhózou pečene, 5 s primárnou biliárnou cirhózou a 7 s nádorovým postihnutím pečene (2 s primárnym hepatocelulárnym karcinómom, 5 s metastatickým postihnutím). Diagnózy boli overené morfológicky.

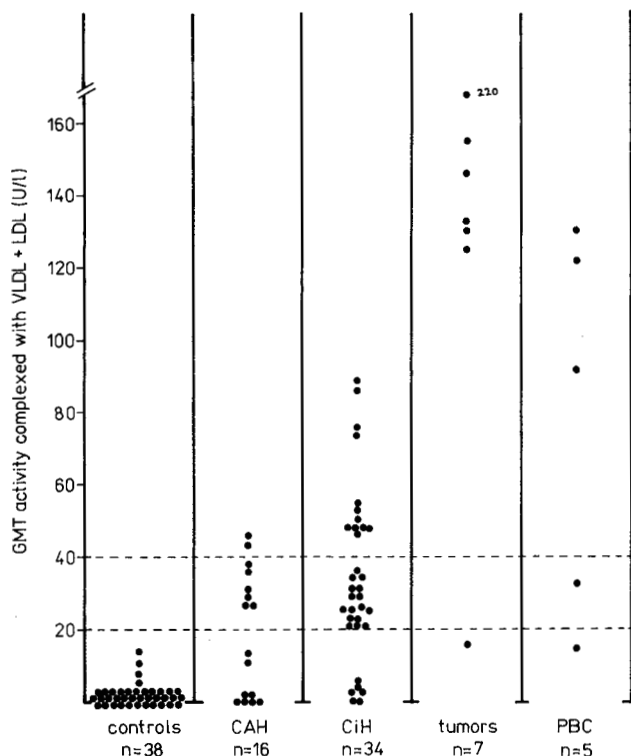
Celkovú aktivitu gamaglutamyltransferázy v sére sme stanovovali fotometricky s použitím súpravy firmy Lachema Brno Bio-La-Test gama-glutamyltransferáza s gama-l-glutamyl-p-nitroanilidom ako substrátom a pri 37 °C. Precipitáciu LDL+VLDL sme robili pomocou súpravy firmy Boehringer Mannheim (HDL-cholesterín, kat. č. 543 004) zloženej z kyseliny fosfowolframovej a chloridu horečnatého. Do skúmavky sme pipetovali 200 µl séra a 500 µl precipitačného činidla. Po 10 minútach sme vyzrážané lipoproteíny scentrifugovali pri 3500 g a v supernatante opäť stanovili aktivitu GMT. Rozdiel medzi celkovou aktivitou GMT a aktivitou nameranou v supernatante predstavuje aktivitu GMT viazanú na LDL+VLDL.

Senzitivitu, špecificitu a diagnostickú účinnosť sme vypočítavali podľa Buttnera (1987).

### Výsledky

Aktivitu gamaglutamyltransferázy viazanej na lipoproteíny VLDL+LDL sme stanovovali ako rozdiel celkovej aktivity nameranej pred precipitáciou a aktivity, ktorú sme namerali v supernatante po precipitácii zmesou kyseliny fosfowolframovej a chloridu horečnatého. Namerané hodnoty GMT sú vyznačené na obrázku 1. Základné ukazovatele validity vyšetrenia — senzitivita, špecificita a diagnostická účinnosť sú vyznačené v tabuľke 1.

V skupine zdravých kontrol sme zaznamenali len u niekoľkých jedincov nevýraznú aktivitu GMT viazanú na VLDL+LDL, ktorá ani v jednom prípade nepresahovala hranicu 20 U.l<sup>-1</sup>. Túto hranicu, ktorej prekročenie považujeme za pozitívny nález, sme prevzali z práce Sacchettiho a spol. (1988). Porovnanie hodnôt GMT v súbore pacientov s hepatopatiami ukázalo, že aktivita GMT sa v súboroch pacientov s chronickou aktívnou hepatitídou a cirhózou pečene do značnej miery prekrývajú a neposkytujú možnosť diferenciácie. Na druhej strane boli u pacientov s nádorovým postihnutím pečene hodnoty GMT viazanej na VLDL+LDL výrazne vyššie ako u pacientov s cirhózou pečene alebo chronickou hepatitídou. Pretože pri použití hranice 20 U.l<sup>-1</sup> sa v skupine chronických hepatitíd a cirhóz pečene značná časť pacientov dostala do oblasti pozitívnych náleзов, posunuli sme túto hranicu na hodnotu 40 U.l<sup>-1</sup>, čím sa zvýšila špecificita testu pri diferenciácii



Obr. 1. Aktivity gamaglutamyltransferázy viazanej na VLDL+LDL u pacientov s ochoreniami hepatobiliárneho systému.  
Fig. 1. Activities of gamma-glutamyltransferase complexed with VLDL+LDL in patients with hepatobiliary diseases.

nádorového postihnutia pečene od cirhózy pečene a chronickej hepatitídy.

### Diskusia

Práce zaoberajúce sa vzťahom väzby GMT na lipoproteíny a pohyblivosti izoform GMT pri elektroforéze ukázali, že izoforma pohybujúca sa vo frakcii alfa-GMT bola precipitovaná spolu s HDL, kým aktivita viazaná na beta-GMT a gama-GMT frakcie precipitovala spolu s VLDL+LDL (Artur a spol., 1984; Castaldo a spol., 1988; Sacchetti a spol., 1989).

Mechanizmus vytvárania komplexov GMT s lipoproteínami zatiaľ nie je objasnený. Je známe, že intrahepatálna a extrahepatálna cholestáza stimuluje syntézu a mení aj spektrum plazmatických lipoproteínov, so zvýšením tvorby LDL, VLDL a lipoproteínu X (Seidel, 1987). Artur a spol. (1984) pozorovali dobrú koreláciu medzi väzbou GMT na apoproteín B a stupňom cholestázy u pacientov s alkoholickými hepatopatiami. Velicia-Llames a spol. (1995) pozorovali u pacientov s hypoalfalipoproteinémiou zvýšenie celkových aktivít GMT v sére. Je možné, že u pacientov s chronickými ochoreniami pečene, o ktorých je známe, že majú zníženú hladinu apoproteínu A, by to mohol byť jeden z faktorov ovplyvňujúcich aktivitu GMT a jej väzbu na lipoproteíny. Zvýšená hladina žlčových kyselín pri ochoreniach pečene s cholestázou by mohla svojím detergentným účinkom solubilizovať z membrán

hepatocytu reaktívne hydrofóbne molekuly GMT, ktoré by potom mohli vstúpiť do interakcie s lipoproteínami (Hirata a spol., 1984).

Diferenciálna diagnostika hepatobiliárnych ochorení predstavuje komplexný proces založený na viacerých klinických, morfológických a laboratórnych vyšetreniach. Jedným z problémov v diferenciácii hepatopatií je odlišenie cirhózy pečene od nádorového postihnutia pečene. Výskyt karcinómov pečene sa dnes odhaduje na 6—11 %, pričom 70—90 % primárnych karcinómov sa vyskytuje v cirhotickom teréne, čo má za následok, že včasné štádiá často unikajú pozornosti. Z tohto hľadiska je každý biochemický ukazovateľ, ktorý umožňuje zlepšenie diferenciácie cirhózy pečene a nádorového postihnutia pečene, vítaný.

Výsledky našej práce potvrdili použiteľnosť vyšetrenia aktivity GMT viazanej na LDL+VLDL v diferenciácii nádorov pečene od chronických hepatopatií, ktorú opisali Sacchetti a spol. (1988). Pri použití rozlišovacej hranice 20 U.l<sup>-1</sup>, ktorú uvádzajú Sacchetti a spol. (1988), bola senzitivita vyšetrenia 85 %, čo je hodnota obdobná, akú dosiahli aj talianski autori. Špecifická vyšetrenia však bola pri rozlišovaní nádorového postihnutia pečene od chronických hepatopatií pri tejto hranici značne nízka (napr. v prípade diferenciácie tumory vs. cirhózy len 29 %). Z tohto dôvodu sme zvýšili hranicu pre hodnotenie pozitívnych a negatívnych nálezov na 40 U.l<sup>-1</sup>. Pri takto zvolenej hranici sa nemenila senzitivita vyšetrenia, ale výrazne sa zvýšila špecifita a diagnostická účinnosť vyšetrenia (napr. v prípade cirhóz z 29 % na 65 %). Napriek zvýšeniu rozlišovacej hranice zostávala špecifita vyšetrenia pri diferenciácii tumorov a primárnej biliárnej cirhózy stále relatívne nízka.

Záverom môžeme konštatovať, že pri použití rozlišovacej hranice aktivity GMT viazanej na LDL+VLDL vo výške 40 U.l<sup>-1</sup> malo vyšetrenie pri diferenciácii nádorových a nenádorových ochorení pečene pomerne dobrú senzitivitu a špecifitu a mohlo by byť vhodnou pomôckou pri diferenciálnej diagnostike týchto stavov.

### Literatúra

Artur Y., Wellman-Bednawska M., Jacquier A., Siest G.: Associations between serum gamma-glutamyltransferase and apolipoproteins: Relationships with hepatobiliary diseases. *Clin. Chem.*, 30, 1984, s. 1318—1321.

Buttner J.: Die validität klinisch-chemisches Befunde. S. 71—78. In: Greiling H., Gressner A.M. (Eds.): *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Stuttgart, Schattauer GmbH 1987.

Capraro M.A., Hughey R.P.: Processing of the propeptide form of rat renal gamma-glutamyltranspeptidase. *FEBS Lett.*, 157, 1983, s. 139—143.

Castaldo G., Fortunato G., Salvatore F., Sacchetti L.: Gamma-glutamyltranspeptidase isoenzyme forms and lipoproteins in normal and pathological sera. *Ital. J. Biochem.*, 37, 1988, s. 111—118.

Dzúrik R. (Ed.): *Štandardná klinickobiochemická diagnostika*. Martin, Osveta 1990, 444 s.

Ellis G., Worthy E., Goldberg D.M.: Lack of value of serum gamma-glutamyltransferase in the diagnosis of hepatobiliary disease. *Clin. Biochem.*, 4, 1979, s. 142—145.

Greiling H., Gressner A.M. (Eds.): *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Stuttgart, F.K. Schattauer GmbH 1987, 1197 s.

Hirata E., Masayasu I., Yoshimasa M.: Mechanism of biliary secretion of membranous enzymes: bile acids are important factors for biliary occu-

rence of gamma-glutamyltransferase and other hydrolases. *J. Biochem.*, 96, 1984, s. 289–297.

**Huseby N.E.:** Hydrophobic form of gamma-glutamyltransferase: proteolytic formation in liver homogenates and its estimation in serum. *Clin. Chim. Acta*, 124, 1982, s. 113–121.

**Kojima J., Kanatani M., Nakamura N. a spol.:** Electrophoretic fractionation of serum gamma-glutamyltranspeptidase in human hepatic cancer. *Clin. Chim. Acta*, 106, 1980, s. 165–172.

**Sacchetti L., Castaldo G., Cimino L. a spol.:** Diagnostic efficiency in discriminating liver malignancies from cirrhosis by serum gamma-glutamyltransferase isoforms. *Clin. Chim. Acta*, 177, 1988, s. 167–172.

**Sacchetti L., Castaldo G., Salvatore F.:** Electrophoretic behavior and partial characterization of disease-associated serum forms of gamma-glutamyltransferase. *Electrophoresis*, 10, 1989, s. 619–627.

**Seidel D.:** Lipoproteins in liver disease. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 25, 1987, s. 541–551.

**Shaw L.M., Petersen-Archer L., London J.W., Marsh E.:** Electrophoretic, kinetic and immunoinhibition properties of gamma-glutamyltransferase from various tissues compared. *Clin. Chem.*, 26, 1980, s. 1523–1527.

**Velicia-Llames M.R., Gonzalez-Hernandez J.M., Sanz-Santa-Cruz C. a spol.:** Increase of gamma-glutamyltranspeptidase in patients with compensated hypoalphalipoproteinemia and type IIa dyslipidemias. *Gastroenterol. Hepatol.*, 18, 1995, s. 319–322.

Do redakcie došlo 1.3.1996.

---

## INFORMÁCIE

---

### ODBORNÉ PODUJATIA SLOVENSKEJ KARDIOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

6th Teaching Workshop on „Catheter Ablation of Arrhythmias“  
*11.–12. apríl 1997, Bratislava*

Podujatie Educational Programme Committee of European Society of Cardiology, Slovenskej kardiologickej spoločnosti a jej Pracovnej skupiny pre arytmiu a kardiostimuláciu. Rokovací jazyk: angličtina.

Kontakt: Doc. MUDr. R. Hatala, CSc., Kardiologická klinika ÚKVCH, Partizánska 2, 813 26 Bratislava. Tel. 07/5314 000, 5314 250, fax: 07/5314 542.

Martinský deň detskej kardiológie

*24. apríl 1997, Martin*

Podujatie Pracovnej skupiny detskej kardiológie SKS, Slovenskej pediatickej spoločnosti, Martinskej fakultnej nemocnice a Joseniovej LF. Téma: Novinky v detskej kardiológii.

Kontakt: Prof. MUDr. A. Jurko, DrSc., Detská klinika MFN, Kollárova 2, 036 59 Martin. Tel. 0842/220 176, fax: 0842/353 86.

XIVth International Congress on Electrocardiology  
38th International Symposium on Vectorcardiography  
*24.–28. jún 1997, Bratislava*

Rokovací jazyk: angličtina. Podujatie organizuje International Society on Electrocardiology za účasti Slovenskej akadémie vied

a Slovenskej kardiologickej spoločnosti. Vybraté z hlavných tém: Biomathematics and biophysics of the cardiac electric field, Computer assisted data analysis in electrocardiography, Myocardial activation and computer modelling of cardioelectric field, Electrocardiologic methods in epidemiology and risk assessment, Clinical ECG, signal averaged ECG, VCG and body surface potential mapping, Heart rate regulation, Holter monitoring, clinical electrophysiology of arrhythmias, Measurement, instrumentation and signal processing. Termín na prihlásenie prednášok: 31. december 1996.

Kontakt: Secretary ICE 1997, MUDr. L. Bachárová, CSc., Ústav pre výskum srdca SAV, Dúbravská cesta 9, 842 33 Bratislava. Tel. 07/374 405, fax: 07/376 637, E-mail: ice97@savba.sk.

Myocardial Adaptation to Ischemia

Satellite to XVIIIth European Section Meeting of International Society for Heart Research (ISHR)  
*27.–30. jún 1997, Stará Lesná, Vysoké Tatry*

Podujatie organizuje Ústav pre výskum srdca SAV v spolupráci s ISHR, ISFC a SKS. Rokovací jazyk: angličtina. Témy: Myocardial adaptation to ischemia — preconditioning, stunning, hibernation.

Kontakt: Doc. MUDr. J. Slezák, DrSc., Ústav pre výskum srdca SAV, Dúbravská cesta 9, 842 33 Bratislava. Tel. 07/374 405, fax: 07/376 637, E-mail: usrdslsz@savba.sk, alebo usrdgaba@savba.sk.