

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Teil 2

Diagnostisch wichtige Enzyme I

Leber und Pankreas

Prof. Dr. Ralf Lichtinghagen
Medizinische Hochschule Hannover
Klinische Chemie
Tel.: 0511-5323940

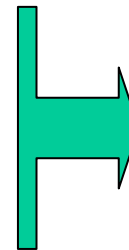
Klinisch-chemische Diagnostik von Lebererkrankungen

Grundlage der Enzymdiagnostik:

Durch Schädigung hervorgerufene Permeabilitätsstörung der Zellmembran, zelluläre Inhaltsstoffe werden frei.

Enzymanstieg im Serum schon im Fall leichter Schäden bei großen enzymreichen Organen (*Bsp: Leber, Pankreas, Herz, Skelettmuskulatur, Knochen, (Prostata), Blutzellen*)

Enzymausstrom aus der Zelle
Verteilung im extrazellulären Kompartiment
Rate der Enzymelimination (recht konstant)



In Zirkulation
vorhandene
Aktivität

Enzyme als Surrogatmarker beim Nachweis von Partialreaktionen der geschädigten Leber

Spektrum der Lebererkrankungen von leichten funktionellen Störungen über akute und chronische Entzündungen, toxisch-nutritive Leberschädigungen bis hin zur Leberzirrhose und primärem Leberzellkarzinom.

Vier pathobiochemische Reaktionen des geschädigten Organs unterscheidbar:

Zellnekrose

Metabolische Insuffizienz

Cholestase

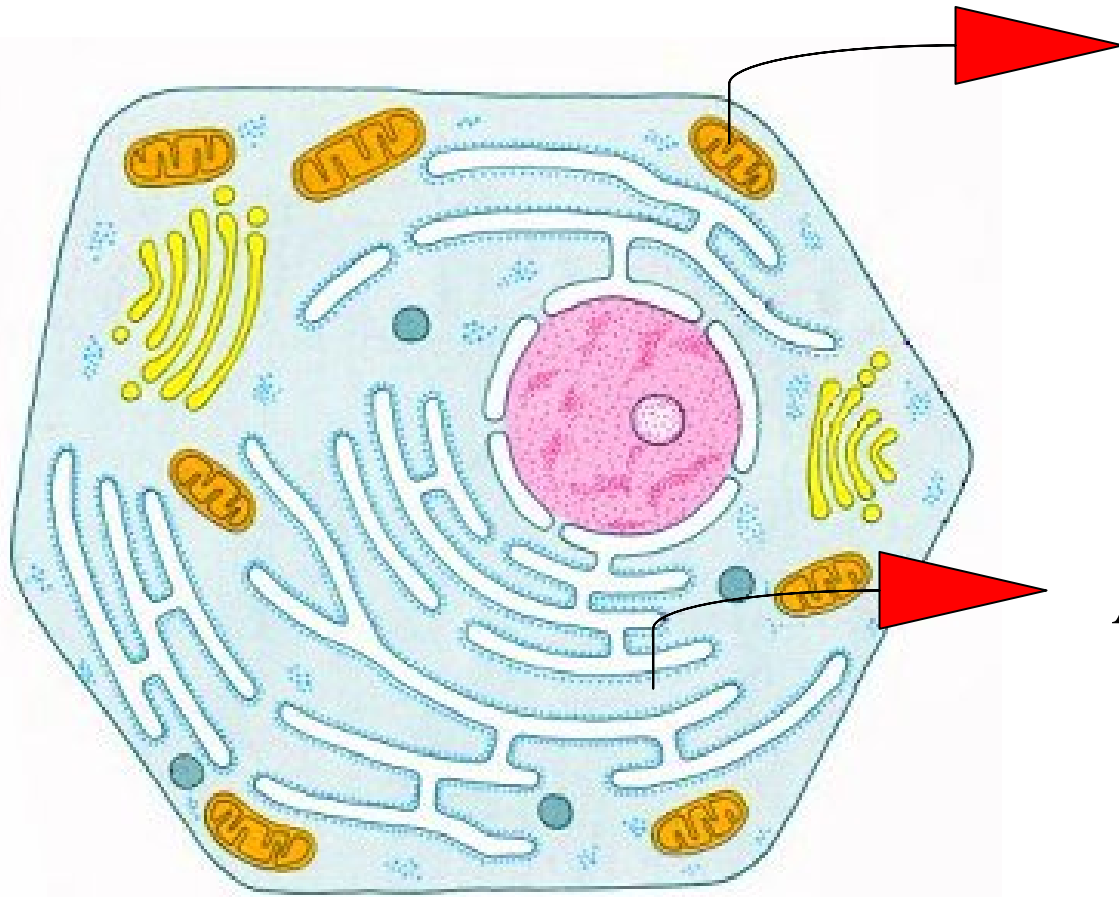
Fibrose

Zellnekrose

Akzidentieller, meist nutritiv-toxischer (z.B. Ethanolmetabolite), immunologischer (HBV, HCV) oder durch reaktive Sauerstoffmetabolite (freie Radikale) verursachter Zelltod der Hepatozyten.

Indikator der Schwere der Einzelzellschädigung (Zellnekrose):
Relation von leicht freisetzbaren (zytoplasmatischen) zu schwer freisetzbaren (mitochondrialen) Enzymen.

Verhältnisse von AST, ALT, GLDH beurteilen



AST, GLDH

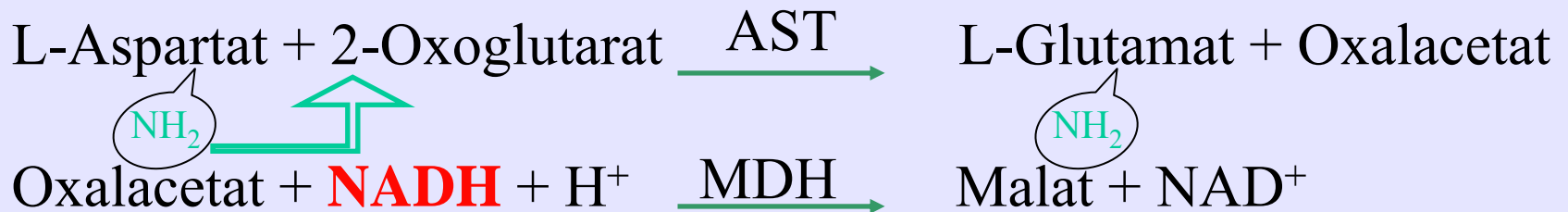
Isoenzyme

ALT, AST

Aspartat-Aminotransferase (AST)

Ein in vielen Geweben vorkommendes Enzym, sowohl zytosolisch gelöst als auch an mitochondriale Strukturen gebunden,

Alte Bezeichnung: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)
(merke: **GOTT** saß auf dem **AST**)



Vorkommen:

vorwiegend exprimiert in Leber und Muskulatur (auch Herzmuskel)

AST in Blut/Serum meist aus Leber, Muskulatur aber auch Erythrozyten

Halbwertszeit im Serum: ca. 17 Stunden

Warum (AST)-Bestimmung im Serum?

Bei Gesunden geringe Aktivität im Serum nachweisbar:

Referenzbereiche (Serum):

Männer: bis 35 U/l

Frauen: bis 31 U/l

Schädigung von (Leber)zellen:

Freisetzung aus den Zellen; leichtere und somit massivere Freisetzung

Im Fall von zytoplasmatisch vorkommenden Enzymen.

 Aktivität des Enzyms steigt im Blut bzw. Serum an.

Erkennung und Verlaufbeobachtung diverser Erkrankungen

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen (AST)

Erkrankungen der Leber/Gallenwege

Hepatitis
Zirrhose
Cholestase
tox. Schäden
Lebertumoren

Skelettmuskel

Muskeldystrophie

Herz

Herzinfarkt (sekundär)

Lunge

Lungeninfarkt

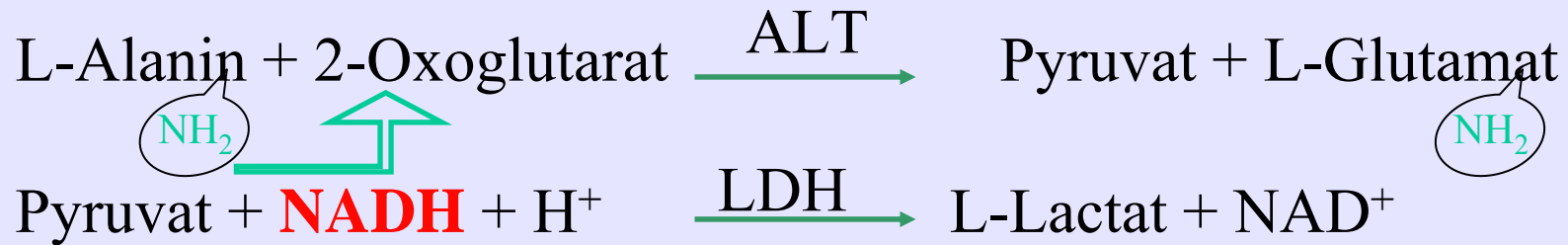
Blut (*AST auch in Erythrozyten*)

hämolytische Anämie

Alanin-Aminotransferase (ALT)

Ein vor allem in der Leber vorkommendes, zytosolisches Enzym, Leitenzym der Leber.

Alte Bezeichnung: Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)



Merke: ALT - Leber

Referenzbereiche (Serum):

Männer: unter 45 U/l

Frauen: unter 34 U/l

Halbwertszeit im Serum:

ca. 47 Stunden

somit ca. 2,5 -3x so lang wie bei der AST

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen (ALT)

ALT ist im Vergleich mit der AST **organspezifisch**, deshalb auch als **Leitenzym** für die Erkennung, Differenzierung und Verlaufsbeurteilung von Erkrankungen der Leber und Gallenwege anzusehen.

Erkrankungen der Leber/Gallenwege

Hepatitis (A, B, C...)

Zirrhose

Cholestase

tox. Schäden

Lebertumoren

Hepatitistherapie:

Höhe des ALT-Wertes kann Notwendigkeit anzeigen:

Behandlungserfolg korreliert mit Abfall

Rückfall korreliert mit Anstieg

AST, ALT oft bezeichnet als

- Leberwerte
- Leberenzyme
- Transaminasen (*eindeutiger*)

Was bedeuten **erhöhte Werte** von AST und ALT?


Leicht erhöht?

Geringe Aussagekraft, bei vielen Erkrankungen möglich.

Stark erhöht?

Leberschaden (viele Ursachen möglich)

Korreliert starke Erhöhung mit schwerem Schaden ???

- Sind verhältnismäßig viele (Leber)zellen betroffen?
 - Beschädigte Zellen müssen nicht zugrunde gehen und können sich regenerieren (z.B. bei einer Hepatitis)
 - Leichter Schaden ($ALT > AST$)
 - Schwerer Schaden ($AST \geq ALT$)
-  zelluläre Verteilung

Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Ein spezifisch in der Leber vorkommendes, mitochondriales Enzym.



Erhöhungen im Blut / Serum
kommen praktisch nur aus
der Leber!

Bestimmung der GLDH zusammen
mit AST, ALT.

Beurteilung im Vergleich!

Referenzbereiche (Serum):

Männer: unter 7 U/l

Frauen: unter 5 U/l

Halbwertszeit ca. 18 Stunden

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen (GLDH)

Schwere und Ausmaß einer Leberzellschädigung

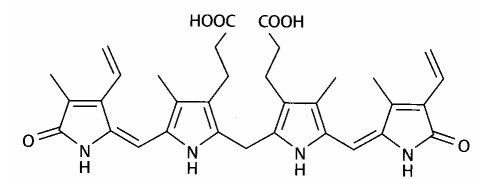
akute Hepatitis
chronische Hepatitis
Zirrhose
Pilzvergiftung
sek. Leberschäden
(Folge anderer Erkrank.)

Differenzierung des Ikterus

Anstieg bei
Verschlussikterus

GLDH-Erhöhungen bedeuten einen schweren Leberschaden

Einschub: Was ist ein Ikterus?



S-Bilirubin: Abbauprodukt des Hämoglobins (Referenzbereich: bis 17 $\mu\text{mol/l}$)

Frühes sichtbares Zeichen: **Sklerenikterus** bei **Hyperbilirubinämie**

(S-Bilirubin > 34 $\mu\text{mol/l}$)

Bilirubin ist **wasserunlöslich**, wird im Blut zum Transport an Albumin gebunden (**unkonjugiertes Bilirubin** = indirektes Bilirubin)

In der Leber wird Bilirubin enzymatisch mit **Glucuronsäure** gekoppelt und somit wasserlöslich (**konjugiertes Bilirubin** = direktes Bilirubin) und anschließend über die **Galle ausgeschieden**. Bei Abflussstörung kann nur konjugiertes Bilirubin renal ausgeschieden werden.

prähepatischer Ikterus

(unkonjugiertes Bilirubin erhöht bei überschießender Bilirubinbildung (Hämolyse))

intrahepatischer Ikterus

(Absorptionsstörung, Konjugationsstörung, Exkretionsstörung)

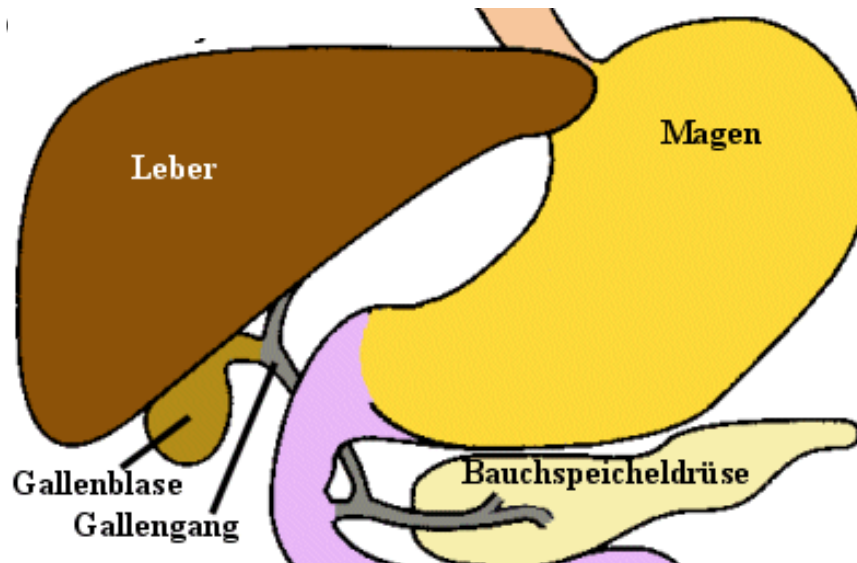
posthepatischer Ikterus

(konjugiertes Bilirubin z.T. stark erhöht bei Verschluss des Gallenganges)

Cholestase

Bildung von Galle, Neusynthese und biliäre Sekretion von Gallensäuren sind Stoffwechselfunktionen der Leber (Funktion des Verdauungssystems), Bilirubinaufnahme, Konjugation und Exkretion als wasserlösliche Form ist besonders vulnerable Teilfunktion.

**Oftmals frühester Hinweis auf Leberschädigung
z.B. durch γ GT- und AP-Bestimmung)**



Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT)

Befindet sich **membrangebunden an Zellen**, die Aminosäuren aus Körperflüssigkeit aufnehmen (Leber, prox. Tubulus, Mukosa), vor allem Zellen im Bereich der kleinen **Gallengänge**.

L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid + Glycylglycin $\xrightarrow{\gamma\text{-GT}}$

γ -Glutamyl-Glycylglycin + **5-Amino-2-nitrobenzoat**



Erhöhungen im Blut / Serum
kommen praktisch nur aus
der Leber!

Bestimmung der γ -GT oft auch
zusammen mit AST, ALT.
Klassischer Leberwert!

Referenzbereiche (Serum):

Männer: unter 55 U/l

Frauen: unter 38 U/l

Halbwertszeit: 3-4 Tage

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen (γ -GT)

Wegen hoher Organspezifität ebenfalls Leitenzym für die Leber.

Negativ prädiktiver Wert: ca. 99%



Normaler γ -GT-Wert in Blut/Serum kann Erkrankung von Leber/Gallenwege ausschließen

(Stark) erhöhter γ -GT-Wert kann Hinweis auf **Galle-Stauung** sein!

(Vergleich mit ALT: γ -GT/ALT >1)

Verschlussikterus

Akute Virushepatitis (*Heilungsverlauf*)

Chron. Hepatitiden (*oft nur Erhöhung im Remissionsintervall*)

Toxische Leberschäden durch Alkohol (*Enzyminduktion*)

Metastasenleber

Pankreaserkrankung mit Leberbeteiligung

Alkalische Phosphatase (AP)

Gruppe von Enzymen, die im alkalischen pH-Bereich die Hydrolyse von Phosphorsäuremonoestern katalysieren, membranständige Zellenzyme (Test bestimmt somit Gesamt-AP im Serum).



Erhöhungen im Blut / Serum
kommen vorwiegend aus
Leber (50%) und Knochen (50%)

Referenzbereiche (Serum):

Männer: 40-129 U/l

Frauen: 35-104 U/l

Halbwertszeit: 3-7 Tage

Alkalische Phosphatase (AP)-Isoenzyme

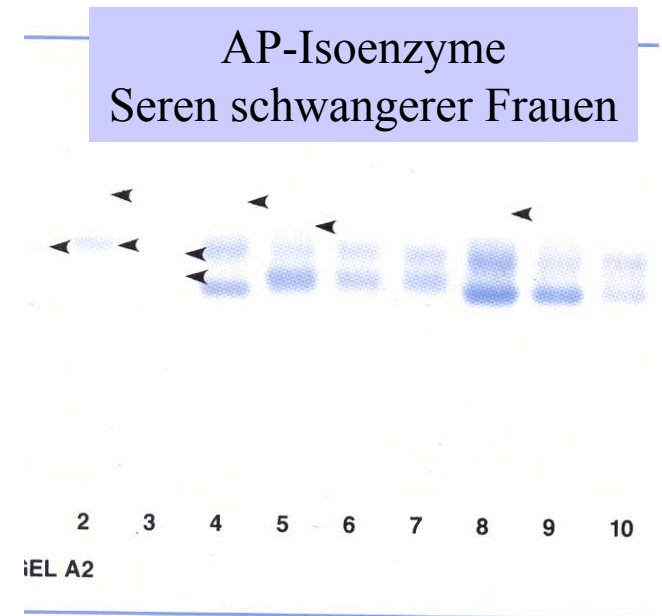
Enzyme mit gleicher Substratspezifität und enzymatischer Wirkung, aber mit Unterschieden im molekularen Aufbau sind Isoenzyme, sie sind Produkte verschiedener Gene.

Isoenzyme (Beispiele):

- mitochondriale und zytoplasmatische Form des gleichen Enzyms (z.B. AST)
- gewebespezifisch vorkommende Varianten (AP)
- bei Enzymen aus mehreren Untereinheiten: unterschiedliche Stöchiometrie, Homo- bzw. Heteropolymere (CK, LDH)

AP-Isoenzyme: gewebunspezifische AP
(*Knochen-AP, Leber-AP*)
intestinale AP
plazentare AP (PLAP)

Quantitativer Nachweis von AP-Isoenzymen: Bestimmung der Enzymaktivität nach Hitzeinaktivierung der Knochen-AP
Enzymimmunoassays für Knochen-AP, PLAP



Qual. Nachweis von AP-Isoenzymen mittels Isoenzymelektrophorese
SSW 7 (1), 17 (2), 28 (3) 34 (4), 36 (5), 37 (6), 38 (7), 48 (8), 41 (9) und SSW 41 (10)

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen/Erniedrigungen (AP)

Lebererkrankungen

Knochenerkrankungen

AP erhöht!

AP erniedrigt!

Cholestase

Morbus Paget (entzündl.
Knochendystrophie)

Skelettmetastasen

Hyperparathyroidismus

Osteomalazie (Knochenerweichung)

Osteomyelosklerose

(bindegewebige Verödung des
Knochenmarks)

fam. Hypophosphatämie

hypophysärer Zwergwuchs

Metabolische Insuffizienz

Beeinträchtigung der metabolischen Leistungsfähigkeit des Einzelhepatozyten oder/und eine Verminderung der funktionellen Leberzellmasse (z.B. Zirrhose)

Resultiert in Ausbildung des portokavalen Umgehungskreislaufes, Aszites, Ödeme, Blutungsneigung, mangelnde Entgiftungsfunktion.

Aktivitätsabnahme von Sekretionsenzymen (CHE)

Cholinesterasen (CHE)

Gruppe von Enzymen, die bevorzugt Ester des Cholins oder des Thiocholins spalten. Der Syntheseort der im Serum messbaren Aktivität ist in der Leber (Serum-Cholinesterase, Pseudocholinesterase).

Nicht identisch mit den Acetylcholinesterasen (lokalisiert an motorischer Endplatte und in Erythrozyten) die Acetyl(thio)cholin spalten.



CHE im Serum wird von der Leber gebildet und freigesetzt.

Biologischer Hintergrund ist unklar.

Labormedizin: **Synthesemarker**
Vergiftungen

Referenzbereiche (Serum):

Männer: 5,32-12,92 kU/l

Frauen: 4,26-11,25 kU/l

Halbwertszeit: ca. 10 Tage

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen/Erniedrigungen (CHE)

CHE erniedrigt bei

chron. Leberstauung

akuter Hepatitis

chron. Hepatitis

Leberzirrhose (*stark erniedrigt*)

Insektizidvergiftung (*Enzym stark gehemmt*)

Muskelrelaxanzunverträglichkeit

(verlängerte Halbwertszeit des Succinylcholins (Substrat der CHE) bei atypischer CHE)

Messung vor OPs



CHE erhöht bei

Fettleber

Exsudative Enteropathie

Nephrotisches Syndrom (*stark erhöht*)

Befundbeispiel I

Patient, 33 Jahre, Emigrant aus Russland. Verzehr eines Pilzgerichtes vor drei Tagen, 12 h später Leibschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, aktuell zunehmende Eintrübung.

S-AST U/l	17300++	bis 35
S-ALT U/l	4290++	bis 45
S-GLDH U/l	1041++	bis 7
S-AP U/l	170+	40-129
S-γ-GT U/l	535+	bis 55
S-CHE kU/l	4,41-	5,32-12.92
S-LDH U/l	10650++	bis 247
S-CK U/l	128	bis 171

Leberzerfallskoma nach Vergiftung mit Knollenblätterpilzen

Befundbeispiel II

Patientin, 53 Jahre. Müdigkeit, Inappetenz, Gliederschmerzen, Erbrechen, Ikterus.

S-AST U/l	492+	bis 31
S-ALT U/l	1365+	bis 34
S-GLDH U/l	20+	bis 5
S-AP U/l	109+	35-104
S-γ-GT U/l	257+	bis 38
S-CHE kU/l	7,50	4,26-11.25
S-Amylase U/l	42	bis 100
S-CK U/l	82	bis 145

Akute Hepatitis B, ikterischer Verlauf

Zur Betätigung: Bestimmung des HB_s-Antigens

Befundbeispiel III

Patientin, 61 Jahre. Kolikartige Schmerzen im rechten Oberbauch, Übelkeit, Erbrechen, Fieber, Ikterus, gelber Stuhl.

S-AST U/l	704+	bis 31
S-ALT U/l	832+	bis 34
S-GLDH U/l	135+	bis 5
S-AP U/l	317+	35-104
S-γ-GT U/l	1061+	bis 38
S-CHE kU/l	10,50	4,26-11.25
S-Amylase U/l	117	bis 100
S-Bilirubin μmol/l	82+	bis 17

Gallensteinkolik (Verschlussikterus)

Befundbeispiel IV

Patient, 46 Jahre. seit mehreren Jahren bekannter Alkoholabusus.

S-AST U/l	148+	bis 35
S-ALT U/l	59+	bis 45
S-GLDH U/l	9+	bis 7
S-AP U/l	87	40-129
S-γ-GT U/l	1290+	bis 55
S-CHE kU/l	9,50	5,32-12,92
S-Amylase U/l	80	bis 100
S-CK U/l	169	bis 171

γ GT-Erhöhung als Folge von Alkoholkonsum (Enzyminduktion)
und Parenchymschaden

Enzyme in der klinisch-chemischen Diagnostik der Pankreatitis

Akute Pankreatitis (Patienten mit akutem Oberbauch- und/oder Thoraxschmerz)

Serum: **Lipase-Aktivität** Anstieg > dreifach über Norm
 α -Amylase-Aktivität
Elastase (Immunoassay)

Urin α -Amylase-Aktivität

Chronische Pankreatitis (irreversible morphologische Veränderungen (Fibrosierung), Funktionsverlust): führt zur exokrinen und endokrinen Pankreasinsuffizienz

direkte Pankreasfunktionstests

Sekretin-Cholezystokinin-Test

indirekte Pankreasfunktionstests

Pankreolauryltest

Elastase im Stuhl (Immunoassay)

Chymotrypsin-Aktivität im Stuhl

Stuhlfettbestimmung

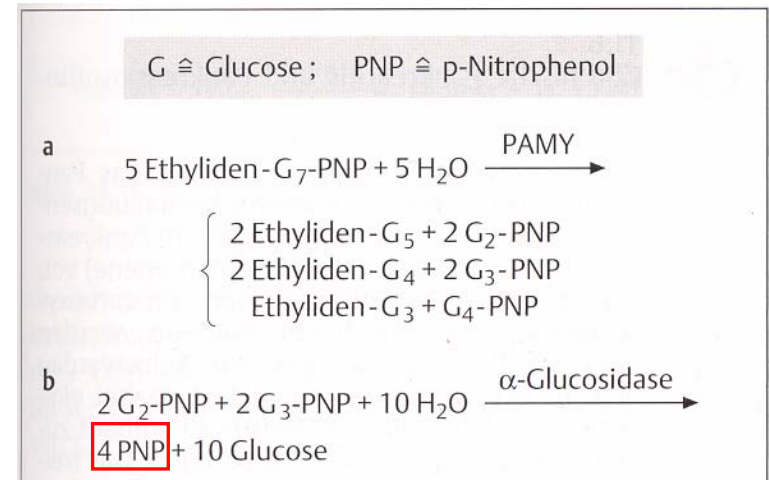
α -Amylasen

Enzyme, die polymere Zucker durch Hydrolyse der 1-4- α -glycosidischen Bindungen (bis zur Maltose) abbauen.

Vorkommen: Pankreas (P-Typ) und Speicheldrüsen (S-Typ). (Im Serum beim Gesunden etwa 50:50)

Glomeruläre Filtration in der Niere, wenig effektive tubuläre Rückresorption, deshalb Ausscheidung im Urin.

Nachweis der Aktivität der
Gesamt- α -Amylase
oder
der Pankreas- α -Amylase
(*Inhibition des S-Typs mit
zwei monoklonalen AK*)



Referenzbereiche (Gesamt-Amylase):

für Männer und Frauen

Serum unter 100 U/l

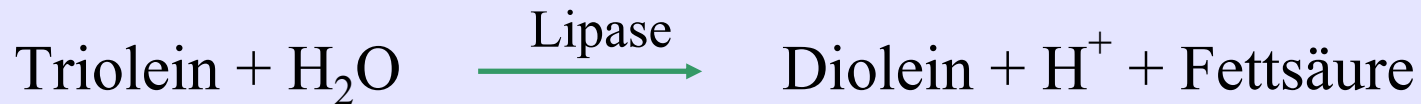
Urin unter 460 U/l

Halbwertszeit: 3-6 Stunden

Lipase

Spaltet von Triglyceriden mit langkettigen Fettsäureresten bevorzugt eine der beiden endständigen Fettsäuren ab.

In der Niere glomerulär filtriert, tubulär rückresorbiert und zu Aminosäuren verstoffwechselt: Kein Nachweis im Urin!!!



Nachweis als turbidimetrischer Test: Im Verlauf der enzymatischen Reaktion nimmt die Trübung der Triolein-Emulsion ab, Abnahme der Extinktion/Zeiteinheit bei 340 nm entspricht der Lipase-Aktivität

gebildet in Drüsenzellen des Pankreas, über Ductus pancreaticus in Duodenum abgegeben.

Spaltet Nahrungsfette (mit Kolipase, Gallensäuren) auf.

Normalerweise nur Spuren im Blut

Referenzbereiche (Serum):

M + F 13-60 U/l

Halbwertszeit: 3-6 Stunden.

Bestimmungsindikationen und Erhöhungen (α -Amylase/Lipase)

Wegen Organspezifität sind die Pankreas- α -Amylase und die Lipase Leitenzyme des exogenen, Verdauungsenzyme-produzierenden Pankreas. Kein Rückschluss auf Ätiologie der akuten Pankreatitis und auf Schwere des klinischen Verlaufs.

Wichtig: **Hyperamylasämie** von **Makroamylasämie** abgrenzen!!
(*Makro-Amylase: Komplex mit IgA, lange Halbwertszeit, Prävalenz 1,5%, ohne Krankheitswert!!*)

Auf die Bestimmung der α Amylase kann verzichtet werden, wenn die Möglichkeit einer Lipase-Bestimmung besteht (höherer Enzymanstieg, länger erhöht nachweisbar).

Tabelle 15.3: Mögliche Ursachen erhöhter Aktivität von α -Amylase und/oder Lipase.

	Amylase	Lipase
akute Pankreatitis	+	+
Pankreaskarzinom	+	+
Ulkusperforation	+	+
Gallenblasenperforation	+	+
Niereninsuffizienz	+	(+)
Parotitis	+	-

Befundbeispiel V

Patient, 34 Jahre. Seit ca. 12 h spontaner Schmerz im Oberbauch, ausstrahlend in den Rücken, Erbrechen.

S-AST U/l	85+	bis 31
S-ALT U/l	110+	bis 34
S-GLDH U/l	11+	bis 5
S-AP U/l	149+	35-104
S-CHE kU/l	6,50	4,26-11.25
S-Amylase U/l	435+	bis 100
S-Lipase U/l	530+	bis 60
S-Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	25+	bis 17

Akute Pankreatitis (Ursache: Alkoholismus, Erkrankungen der Gallenwege, chirurgische Eingriffe)