

# **KLINIČKI ZNAČAJ I METODE ODREĐIVANJA HEPATITIS I TUMOR MARKERA**

Autor:

**Alma Bezdrob**

laboratorijski tehničar

Mentor:

**Amila Kapidžić, mr. ph.**

spec. med. biohemije

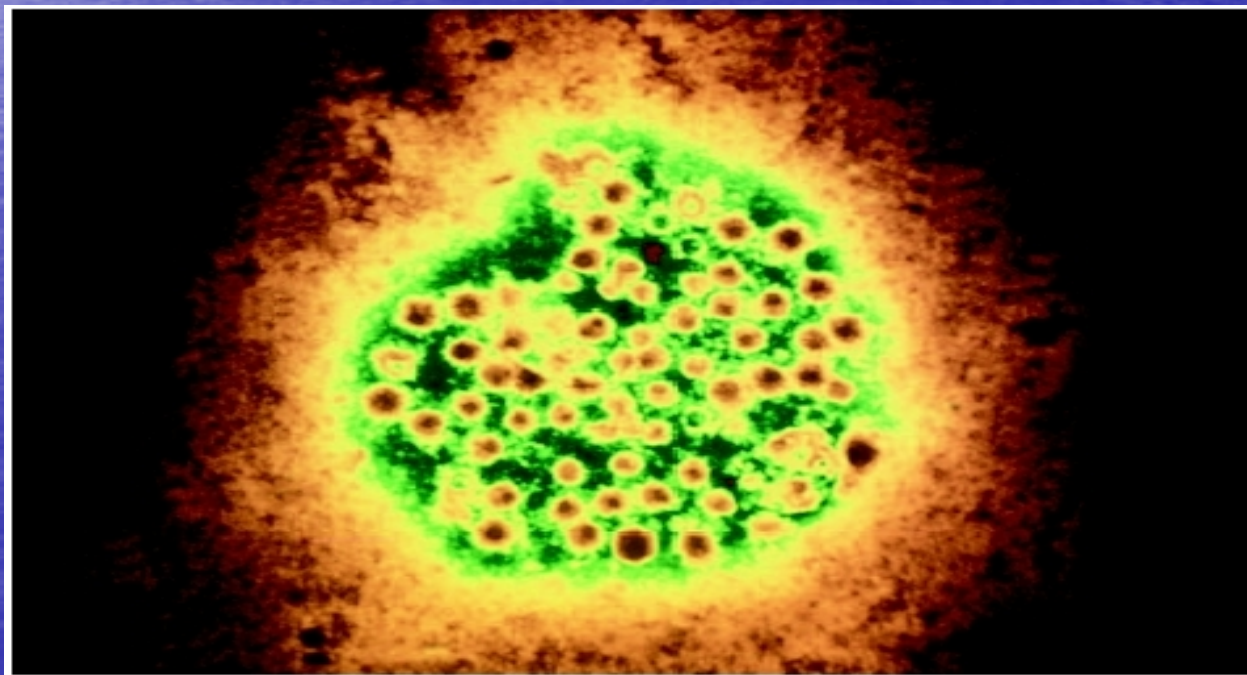
Hepatitis općenito označava upalne i nekrotične promjene hepatocita, koje rezultiraju smanjenom funkcionalnom sposobnošću jetre i abnormalnim rezultatima pretraga za ispitivanje funkcije jetre. Akutni virusni hepatitis je najčešća bolest jetre u svijetu odgovorna za oko jedan do dva miliona umrlih godišnje. Poznato je šest različitih tipova akutnog virusnog hepatitisa: A, B, C, D, E, G.



Biohemijski nalazi su također slični. Povećane su aktivnosti aminotransferaza od 4-200 puta od referentne vrijednosti. Kod akutnog virusnog hepatitisa aktivnost ALT je veća od aktivnosti AST (De Ritisov kvocijent). Za prognozu i težinu bolesti veoma je važan njihov odnos (kod težih slučajeva razlika je manja). Povećanje aktivnosti GGT u serumu je do 200 U/L a ALP je povećana umjereno ili je u granicama normale.

# HEPATITIS A

Virus hepatitisa A (HAV) je jednolančani virus. Akutnu infekciju karakterišu prisustva IgM antitijela tokom 16-40 nedelja, a nestaju 4-6 mjeseci nakon početka bolesti.

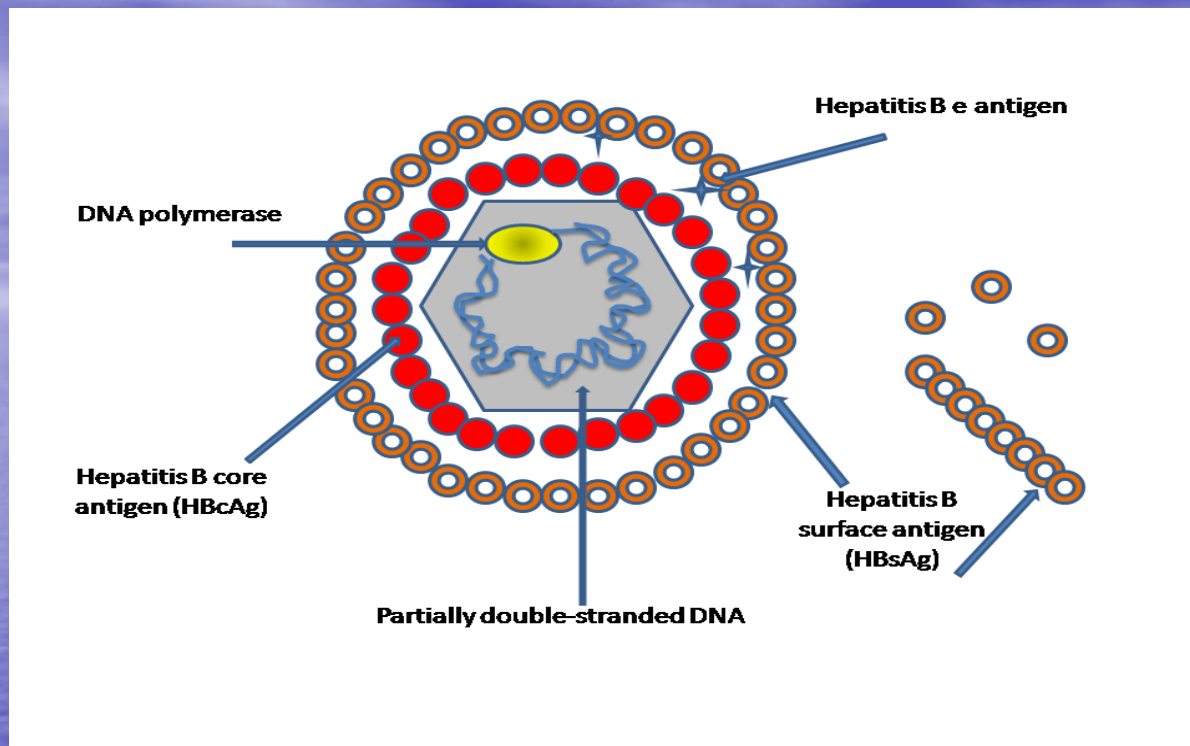




# HEPATITIS B

Virus hepatitisa B (HBV) rasprostranjen je širom svijeta. U visokorizične grupe za hepatitis infekciju, između ostalih, spada i zdravstveno osoblje.

Virusna čestica sadrži antigene HBsAg, HBcAg i HBeAg pomoću kojih dijagnosticiramo HBV. Osim njih tu su antitjela: anti-HBs, anti-HBc i anti-HBe.



**HBsAg** je antigen koji se pojavljuje tokom inkubacije i predstavlja prvi znak akutne infekcije virusom B.

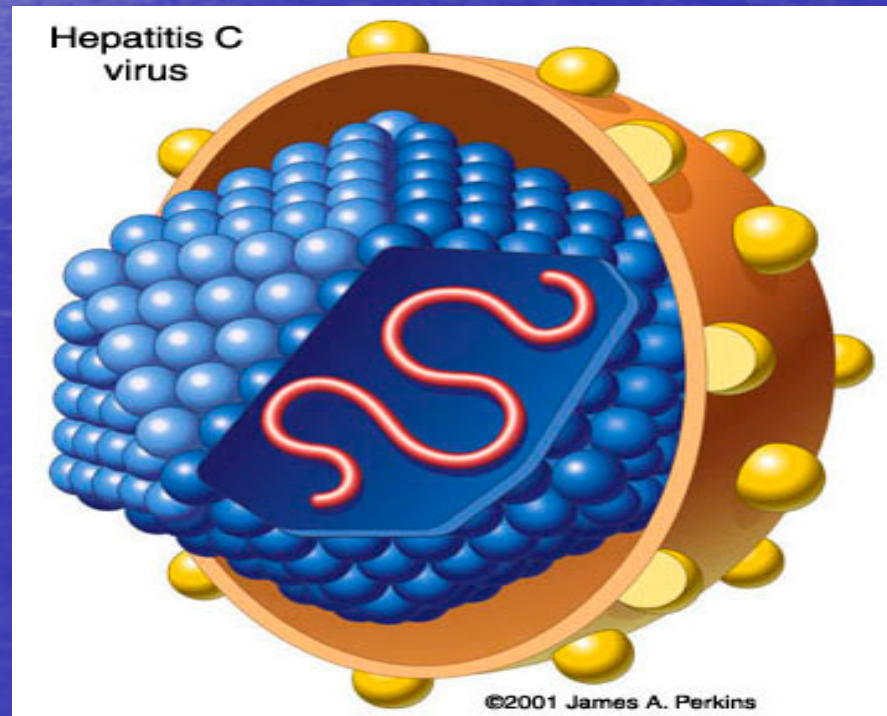
HBcAg može se otkriti u inficiranim ćelijama jetre dok se u serumu otkriva samo specijalnim metodama.

HBeAg je iz jezgra virusa i nalazi se samo u HBsAg pozitivnom serumu. Prisustvo HBeAg je znak aktivnijeg umnožavanja virusa i ukazuje na povećanu infektivnost krvi.



# HEPATITIS C

Virus hepatitisa C (HCV) je najčešći do sada poznati uzročnik posttransfuzionih hepatitisa. Anti-HCV se često ne mogu detektovati 9-12 mjeseci nakon infekcije što dovodi do lažno negativnih rezultata.

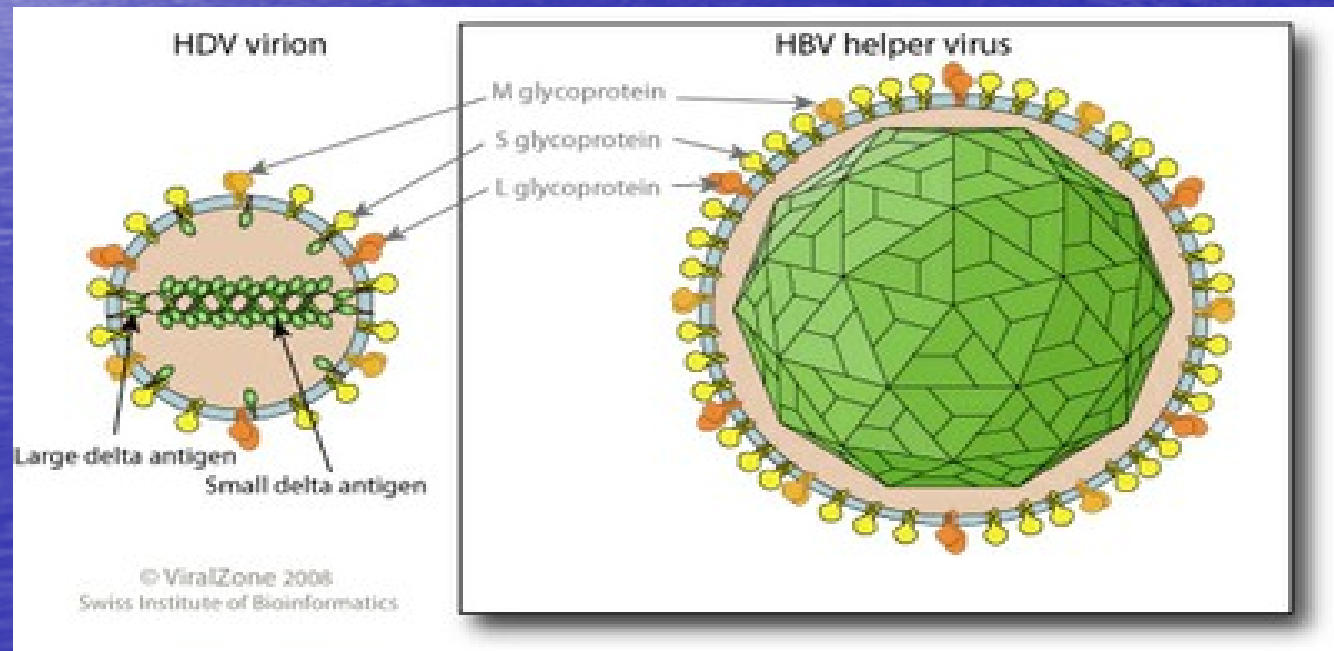




Anti-HCV test se može smatrati pozitivnim ukoliko je potvrđen Western blot analizom. Detekcija anti-HCV IgM klase je moguća kod akutne i u 80 % slučajeva hronične infekcije. Hronična HCV infekcija prisutna je ukoliko se markeri mogu detektovati duže od godinu dana.

# HEPATITIS D (HDV)

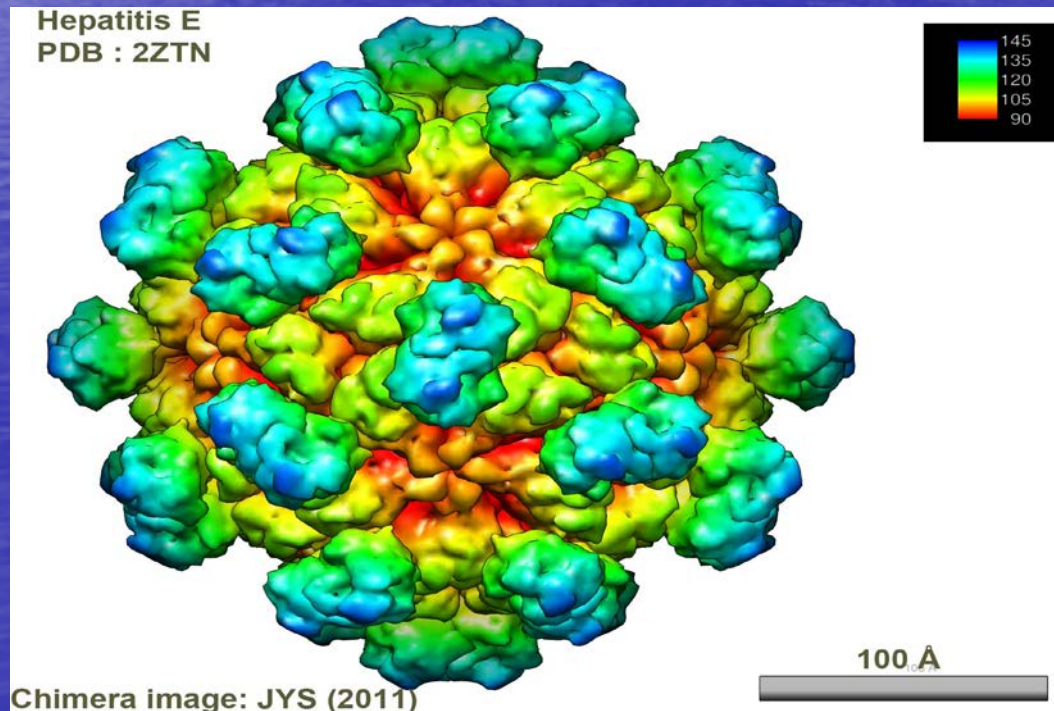
Čovjek se najčešće inficira istovremeno HBV i HDV ili se HDV događa nakon HBV infekcije. Dijagnoza se potvrđuje pozitivnim rezultatom HDV- $\text{Ag}$  i anti HDV-IgM antitijela ili HDV RNA i anti HDV IgG u osoba koje su HBsAg pozitivne.





# HEPATITIS E (HEV)

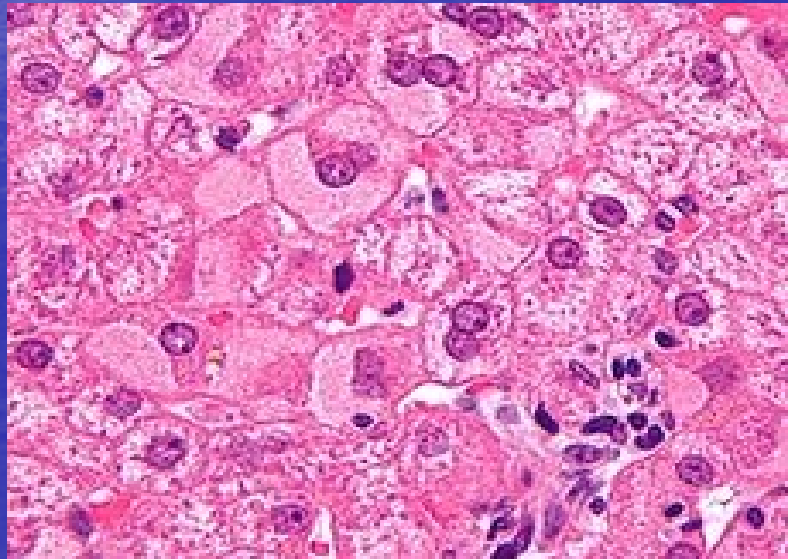
Anti-HEV antitijela mogu se tražiti u slučaju akutnog hepatitisa ako su testovi na hepatitis A, B i C negativni a anamneza i klinička slika upućuju na akutni hepatitis.



# HEPATITIS G

HGV virus tek je nedavno otkriven u krvi.  
Pojavljuje se uz HBV ili HCV ili sam.

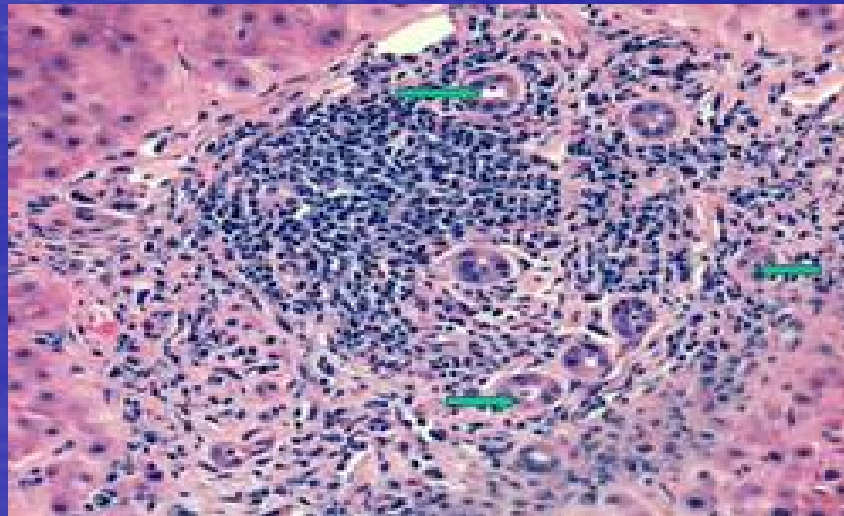
Otkriva se primjenom PCR-analize specifične za  
HGV-RNA.





# HRONIČNI OBLICI VIRUSNOG HEPATITISA

Otkrivaju se uglavnom povećanjem aktivnosti aminotransferaza u serumu i pozitivnim serološkim testovima: HBsAG (ako se radi o hepatitisu B) Hepatitis C antitijela (ako se radi o hepatitisu C) HBsAG i hepatitis D antitijela (ako se radi o hepatitisu D)



# HRONIČNA HCV INFEKCIJA

Prisutna je ukoliko su markeri detektabilni duže od godinu dana. Prisustvo HCV RNK je potvrda hroničnog hepatitisa C, dok negativan HCV RNK je potvrda oporavka od infekcije.



# AKUTNI HBC HEPATITIS

HCV RNK je prvi marker koji se pojavljuje već u toku prve ili druge sedmice nakon izlaganja virusu Anti HCV - moguće ih je detektovati 2-3 mjeseca nakon izlaganja virusu.

# TUMOR MARKERI

To su spojevi čija prisutnost ili povećanje koncentracije označava prisustvo zloćudnog tumora.

Tumorski markeri su najčešće razni onkofetalni proteini, odnosno antigeni te neki enzimi ili njihovi izoenzimi.

Tumorski markeri su, pored otkrivanja tumora, korisni i za praćenje razvoja tumora kao i u kontroli terapije.



# AKUTNI HBV HEPATITIS

Pozitivan nalaz HBsAg i/ili anti HBcIgM uz pozitivan HBeAg i HBV-DNK. Tokom bolesti postoji period kada se HBsAg već povukao iz krvi antitijela HBs tipa IgG se još nisu pojavila pa je u tom periodu pozitivan nalaz anti-HBc tipa IgM i IgG jedini pozitivan rezultat. HBcIgM antitijela se zadržavaju u cirkulaciji oko par mjeseci i predstavljaju glavni marker akutne HBV infekcije i „zlatni standard“ u postavljanju dijagnoze.

AFP je glikoprotein s jedni polipeptidnim lancem. Normalno se stvara u fetalnoj jetri, ali odmah poslije rođenja koncentracija mu u krvi pada. Povećana koncentracija AFP-a nalazi se u raznim malignim bolestima , najčešće kod primarnog tumora jetre i testisa kao i tokom trudnoće ali i nekih benignih bolesti (ciroza jetre, akutni i hronični hepatitis).

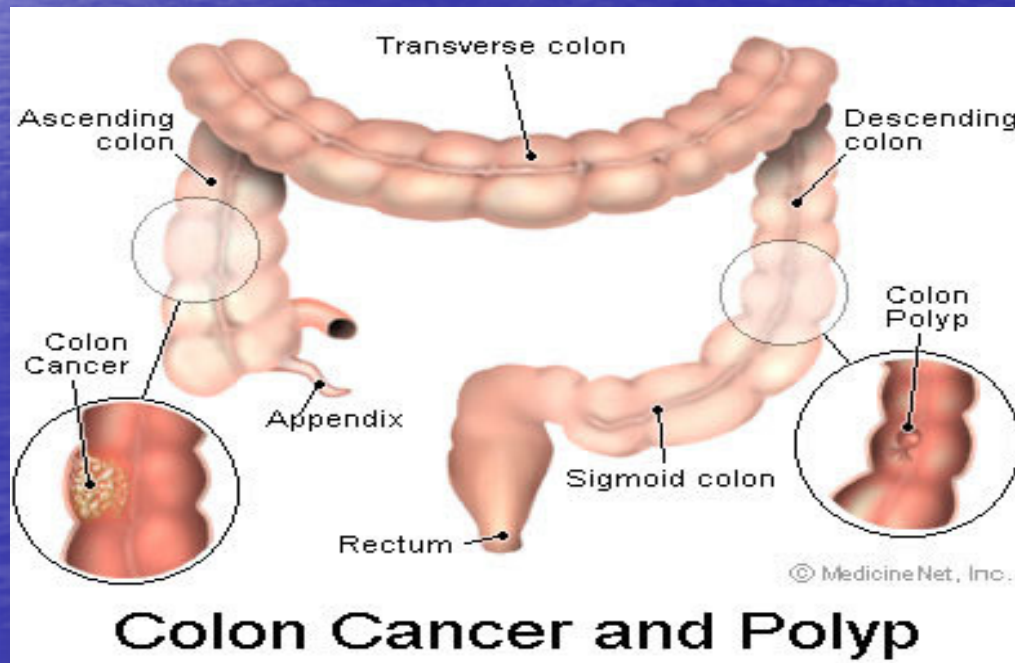




CEA (karcinoembrionalni antigen) je također glikoprotein koji sadrži oko 40-80 % ugljikohidrata. Najčešće se nalazi povišen kod tumora pankreasa, želuca, kolona, dojke i metastaza u jetri. I ovaj antigen nije strogo tumorski specifičan pa se javlja i u benignih bolestima. Raste kod upalnih procesa – npr. upala pluća, jetre, GITa...



**Ca 19-9** (gastrointestinalni karcinom-antigen) je glikoprotein dobiven od miša imuniziranog stanicama humanog karcinoma kolona. Povišene koncentracije se nalaze kod tumora pankreasa, želuca, jetre i kolona. Žene imaju veće vrijednosti, posebno za vrijeme menstrualnog ciklusa. Postoji korelacija između vrijednosti ovog tumor markera i veličine tumora.



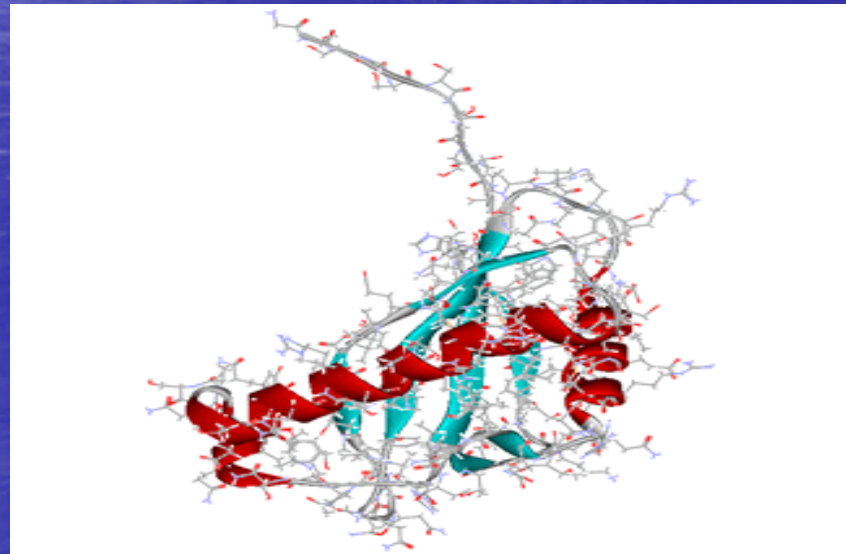


Ca 125 je veoma specifičan i osjetljiv marker koji se radi koda se sumnje na karcinom ovarija, jajovoda, cerviksa i korpus uterusa. Korelira sa masom tumora. Ako se vrijednost ne smanji 40 dana nakon operacije, vjerovatan je smrtni ishod. Vrijednosti su povećane u menstrualnom ciklusu i kod rane trudnoće.

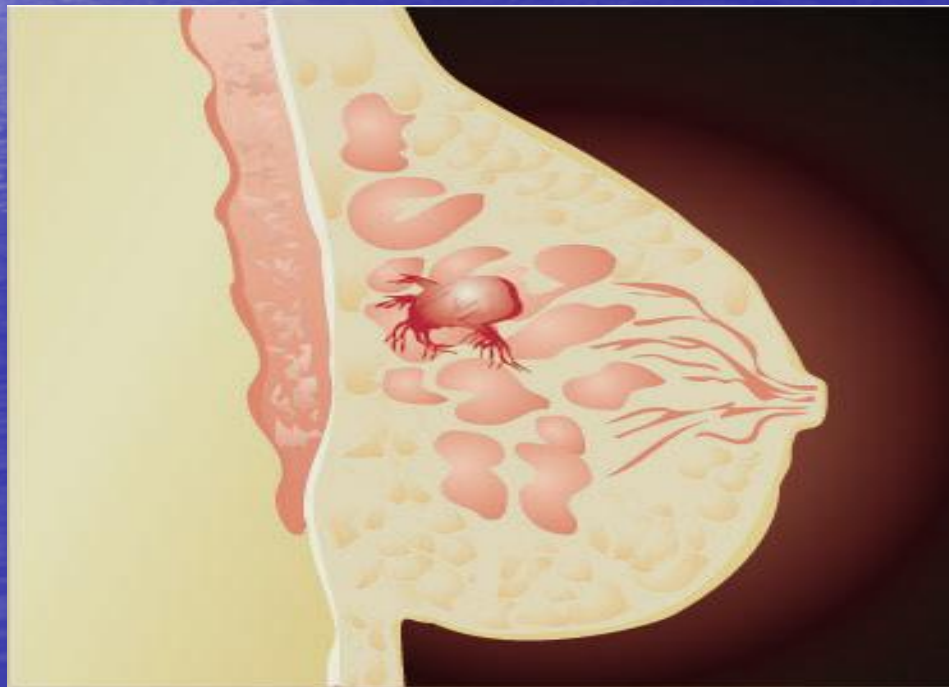
U trudnoći se toleriraju sljedeće vrijednosti:

12-25 IU/ml- II trimestar

17-44 IU/ml III trimestar

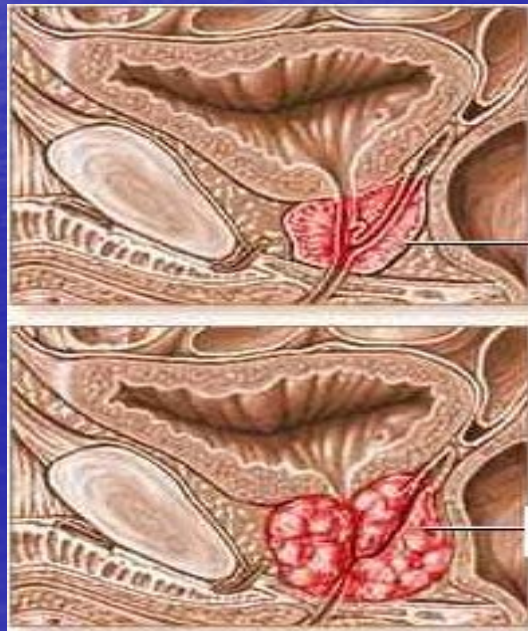


Ca 15-3 je visokospecifičan tumorski marker za kliničko praćenje karcinoma dojke. Može biti povećan i kod karcinoma jajnika, pluća, prostate kao i kod upale dojki i jajnika, ciroze jetre... Trudnice i žene koje doje također mogu imati povećane vrijednosti ovog markera.





**PSA** (prostatični specifični antigen) nalazi se u niskoj koncentraciji u krvi svih odraslih muškaraca. Njegovo odrađivanje je najkorisnije kod karcinoma prostate. Nakon eventualnog rektalnog pregleda mora proći najmanje 48-72 h prije vađenja PSA jer može doći do lažno povećanih rezultata. Vožnja biciklom također može uzrokovati lažno povećane rezultate PSA.

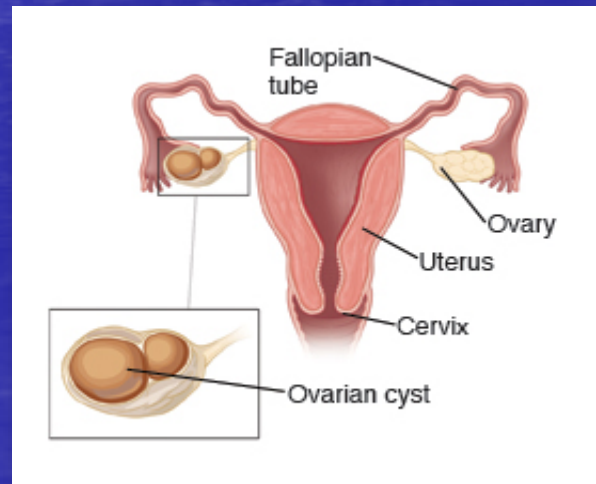


**PAP** (prostatična kisela fosfataza) je također tumorski marker kojeg u krvi zdravog odraslog muškarca ima u manjoj količini. Povećane vrijednosti su kod tumora prostate a još veće kod pojave metastaza. Takođe se povećane vrijednosti mogu javiti kod benignog oboljenja prostate, osteoporoze, ciroze jetre...

**HCG** (humani korionski gonadotropin) je hormon koji ima značaj kao tumorski marker. To je marker koriokarcinoma a može biti povećan i kod karcinoma jetre, pluća, želuca i gušterače.



**HE - 4** - karcinom ovarija je danas peti uzročnik smrtnosti kod žena u SAD. Humani Epididimis protein 4 je novi marker u dijagnostici karcinoma jajnika i produkt je HE4 gena koji je sveprisutan kod pacijentica oboljelih kod karcinoma ovarija. Sve do sada sprovedene studije su pokazale veću osjetljivost ovog markera u dijagnostici ovog tipa kancera u odnosu na Ca-125. Ovaj marker korelira sa progresijom bolesti 3.



SCC – Squamous carcinoma cell – Karcinom skvamoznih stanica. Nedavno otkriveni antigen karcinoma skvamoznih stanica (SCC Ag) je vrlo obećavajući tumorski marker prvenstveno u dijagnostici karcinoma pluća.

52 pacijenta oboljela od različitih plućnih oboljenja i malignih i benignih,

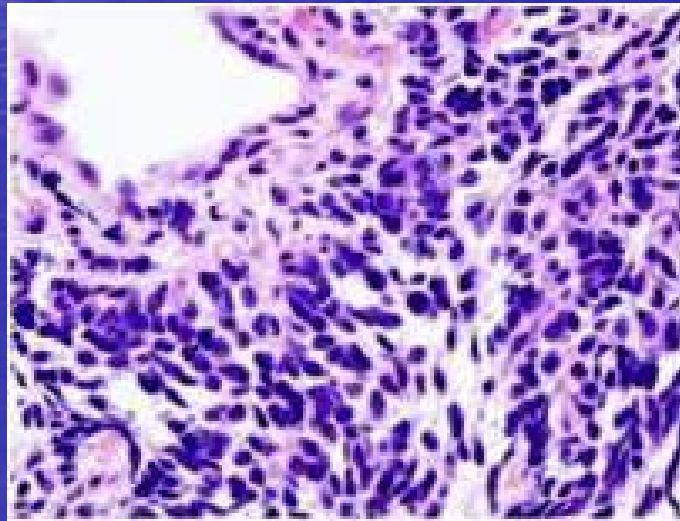
17 pacijenata oboljelih od renalne insuficijencije i 56 zdravih osoba.



Nađene su povišene vrijednosti SCC antigena kod 11 od 25 pacijenata sa skvamoznim karcinomom pluća i kod jednog pacijenta sa kombinovanim adeno-skvamoznim karcinomom pluća, ali kod ostalih pacijenata sa benignim oboljenjima pluća i kod pacijenata sa drugim tipovima karcinoma pluća nisu nađene povišene vrijednosti ovog antigena.

Lažno povećane vrijednosti SCC antigena su nađene kod 6 pacijenata sa renalnom insuficijencijom a koji su imali jako visoke razine kreatinina u serumu. Iz toga proizilazi da je SCC antigen visoko specifičan kod pacijenata sa normalnom bubrežnom funkcijom.

GRP je neuropeptidni hormon kojeg produciraju ćelije mikrocelularnog karcinoma pluća. Njegovo određivanje nije moguće zbog izuzetne nestabilnosti. Stoga se u te svrhe određuje Pro-GRP. Povećan nivo Pro-GRP se nalazi kod karcinoma štitne žlijezde, mikrocelularnog karcinoma pluća i različitih malignih tumora neuroendokrinog sistema.





# Metoda određivanja tumorskih i hepatitis markera

Princip metode – CMIA ili hemiluminiscentni mikročestični imunosej je nekompetitivni sendvič imunotest. Pod pojmom „nekompetitivni sendvič imunosej“ podrazumijevamo tehniku koja se odlikuje izuzetno visokom osjetljivošću i specifičnošću, a naziva se „sendvič“ tehnikom iz razloga što je analit koji se određuje vezan između dva visoko specifična antitijela (kao u „sendviču“).

Luminiscencija je pojava emisije svjetlosti za koju u procesu pobuđivanja nije potrebna termička energija. Pojava emisije svjetlosti u hemiluminiscenciji nastaje kada elektron iz osnovnog stanja, nakon apsorpcije energije, prelazi u pobuđeno stanje, ostaje u tom stanju vrlo kratko i ponovo se vraća u osnovno stanje emitujući kvant svjetlosti. Kod hemiluminiscencije pobuđivanje ekscitacija je uzrokovana hemijskom reakcijom, tj. oksidacijom organskih jedinjenja, a u konkretnom slučaju oksidacijom estara akridinijuma.



U prvoj fazi dolazi do reakcije između mikročestica, koje su prekrivene specifičnim antitijelom, na analit koji se određuje (hepatitis ili tumorski marker), pri čemu se određivani analit čvrsto vezuje za mikročesticu preko antitijela. Nakon toga, dodaje se drugo specifično antitijelo koje je obilježeno akridinium derivatom, koji se odlikuje visokom emisijom svjetlosti koja se u ovom slučaju i mjeri. Nakon inkubacije, dodaje se tzv. pre-trigger otopina. To je vodonik-peroksid koji stvara kiselu sredinu i sprječava preranu emisiju svjetlosti. Nakon toga, dodaje se trigger otopina, tj. NaOH

Akridinium podliježe oksidativnoj reakciji nakon izlaganja vodonik peroksidu i NaOH, što dovodi do pojave hemiluminiscencije i oslobađanja svjetlosne energije koja se mjeri. Kod nekompetitivnih imunoeseja, tako i kod CMIA, količina svjetlosnog signala je direktno proporcionalna količini analita prisutnog u uzorku.



# Abbot Architect i 2000 CMIA



HVALA ŠTO NISTE ZASPALI

