بیماری‌های کبدی و آزمایش‌های مربوطه

Liver Diseases and Related Laboratory Tests

دکتر رضا محمدی *(DCLS, PhD)*

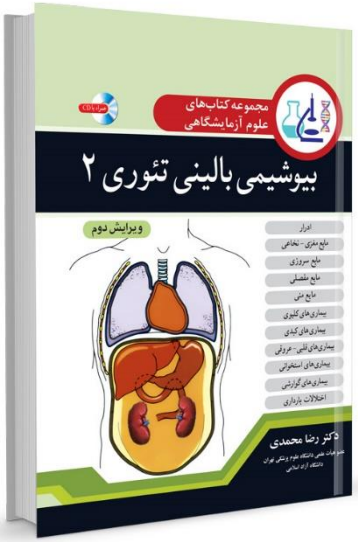
Rmbiolab.com

بیماری‌های کبدی و آزمایش‌های مربوطه

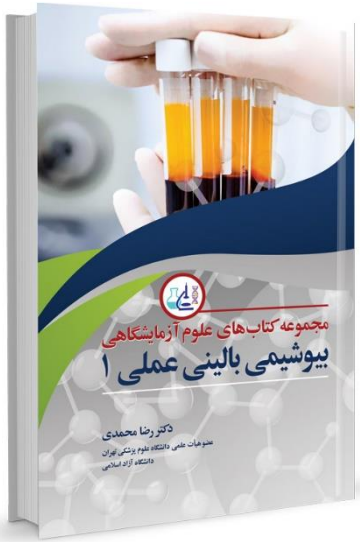
- آنالیت‌های مرتبط با بیماری‌های کبدی
- بیماری‌های کبدی و ارزیابی آزمایشگاهی آنها
- جنبه‌های آزمایشگاهی

مرجع

فصول ۱۰، ۸، ۷ و ۱۱

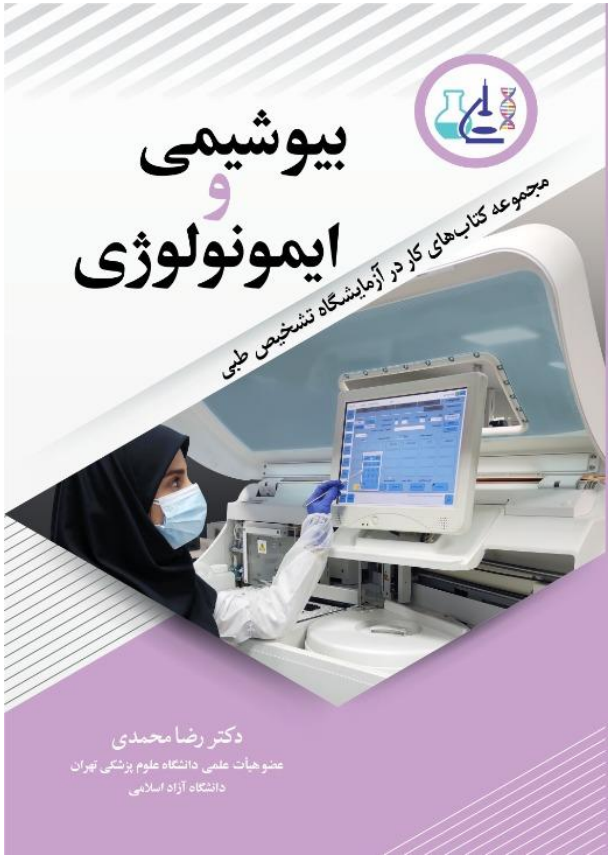


فصول ۲، ۸ و ۹



فصول ۴، ۵، ۷ و ۸

مرجع


بیوشیمی
و
ایمونولوژی
مجموعه کتاب‌های کار در آزمایشگاه تشخیص طبی
دکتر رضا محمدی
عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دانشگاه آزاد اسلامی

فصل ۶

قسمت اول

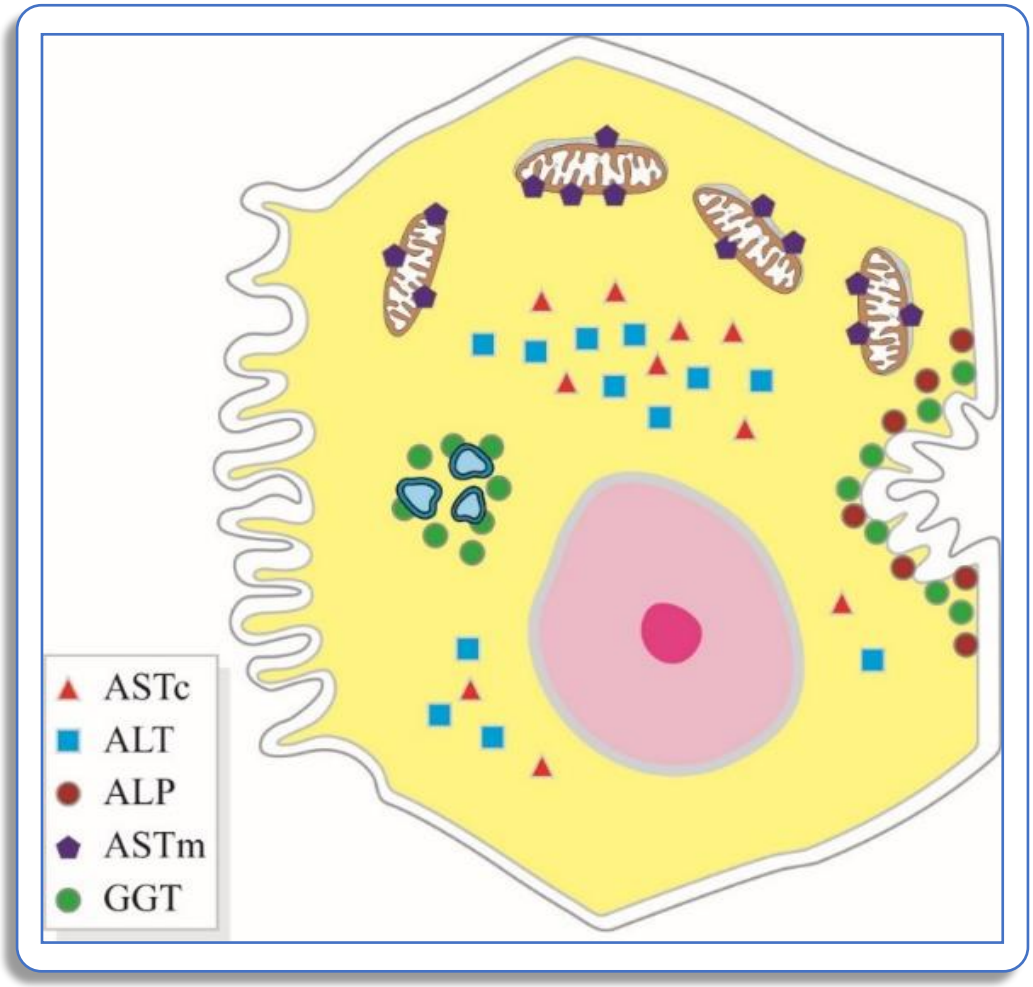
آنالیت‌های مرتبط با بیماری‌های کبدی

آنالیت‌های معمول مرتبط با بیماری‌های کبدی

- ALT, AST, ALP, GGT
- Direct & Indirect Bilirubin, Urobilinogen
- Total protein and Albumin
- Prothrombin time (PT)
- Ammonia

آنزیم‌های کبدی

آنزیم‌های کبدی: توزیع داخل‌سلولی



آنزیم‌های کبدی: موقعیت و نیمه-عمر

جدول ۲-۸ آنزیم‌های موجود در سلول‌های کبدی که اندازه‌گیری مقادیر سرمی آنها کاربرد بالینی دارد

آنزیم	موقعیت	نیمه‌عمر	علت افزایش
ASTc	سیتوزولی	۱۷ ساعت	هپاتیت ویروسی یا شیمیایی
ALT	سیتوزولی	۴۷ ساعت	هپاتیت ویروسی یا شیمیایی
ASTm	میتوکندریایی	۸۷ ساعت	آسیب میتوکندری
ALP	غشاء کانالیکول	۳ روز	انسداد صفراوی
GGT	غشاء کانالیکول میکروزوم	۱۰ روز	انسداد صفراوی، القاء میکروزومی

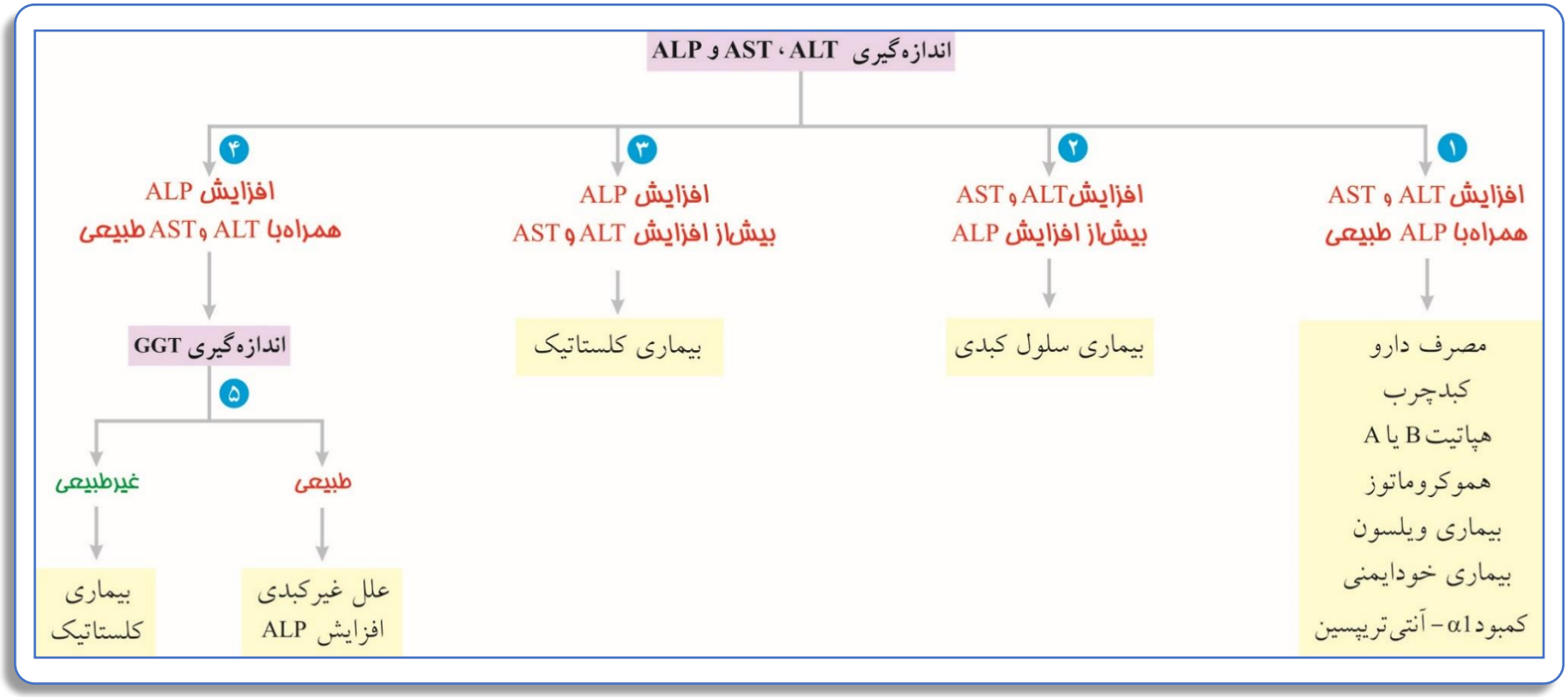
مخففها: ASTc، آسپارتات ترانس‌آمیناز سیتوزولی؛ ALT، آلانین ترانس‌آمیناز؛ ASTm، آسپارتات ترانس‌آمیناز میتوکندریایی؛ ALP، فسفاتاز قلیایی؛ GGT، گاما-گلوتامیل ترانسفراز .

آنزیم‌های کبدی:
تغییرات

کادر ۱-۸ تغییرات آمینوترانسفرازها در شرایط مختلف

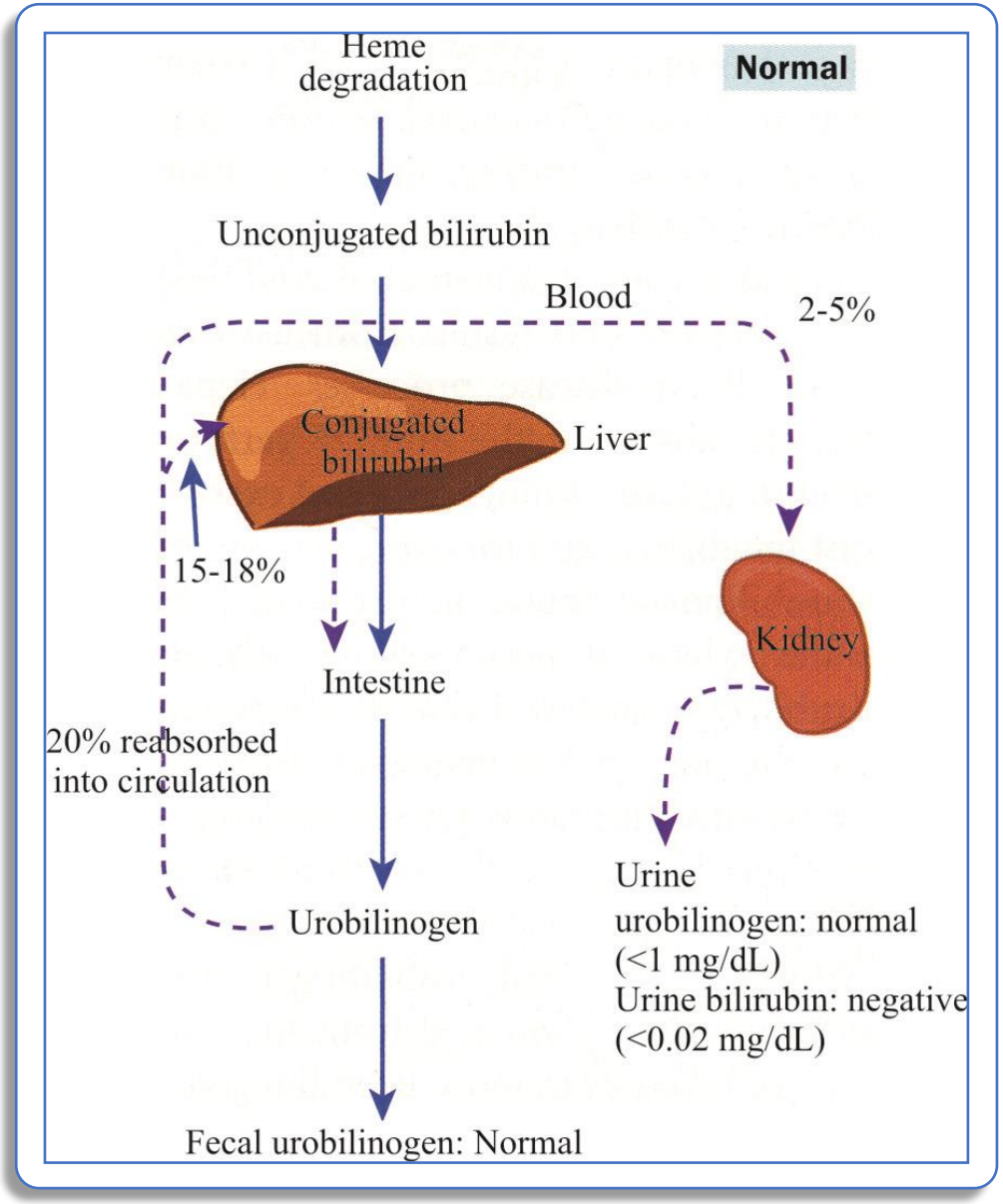
- در اکثر موارد **آسیب حاد سلول کبدی**، نظیر هپاتیت، در ابتدا میزان AST بیش از ALT افزایش می‌یابد، ولی ظرف ۲۴ تا ۴۸ ساعت میزان ALT بیش از AST می‌شود.
- در صورتی که یکی دو روز بعد از آسیب حاد کبدی، همچنان فعالیت AST بیش از ALT باشد، آنگاه احتمال آسیب میتوکندری سلول‌های کبدی، مثلاً به دلیل **هپاتیت حاد الکلی** یا **نارسایی کبدی حاد برق‌آسا**، وجود دارد.
- در **آسیب مزمن سلول کبدی**، معمولاً ALT بیشتر از AST است؛ اگر در بیماری مزمن کبدی نسبت AST به ALT بیش از ۲ باشد، آنگاه قویاً بیماری الکلی مزمن کبد مطرح می‌گردد.
- در مبتلایان به **سیروز**، فعالیت آمینوترانسفرازها معمولاً پایین است. با این حال در این وضعیت AST اغلب بیش از ALT می‌باشد.
- **افزایش خفیف آمینوترانسفرازها** در بیماران بدون علامت دلایل مختلفی، شامل مصرف الکل یا دارو، هپاتیت ویروسی مزمن یا بیماری کبد چرب غیرالکلی دارد.
- ALT معیار اختصاصی‌تری برای جستجوی بیماری کبدی در بیماران غیرالکلی و بدون علامت می‌باشد. افزایش خفیف ولی طولانی‌مدت ALT، احتمال هپاتیت C را مطرح می‌کند.
- برای **پایش درمان با داروهای هپاتوتوکسیک**، از اندازه‌گیری فعالیت AST سرمی استفاده می‌شود. میزان فعالیت بیش از سه برابر حد بالای طبیعی، نشانه‌ای برای قطع درمان دارویی است.
- علل کمتر شایع افزیش فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی شامل هموکروماتوز، بیماری ویلسون، کمبود α_1-آنتی‌تریپسین، و بیماری‌های خودایمنی کبد می‌باشند.

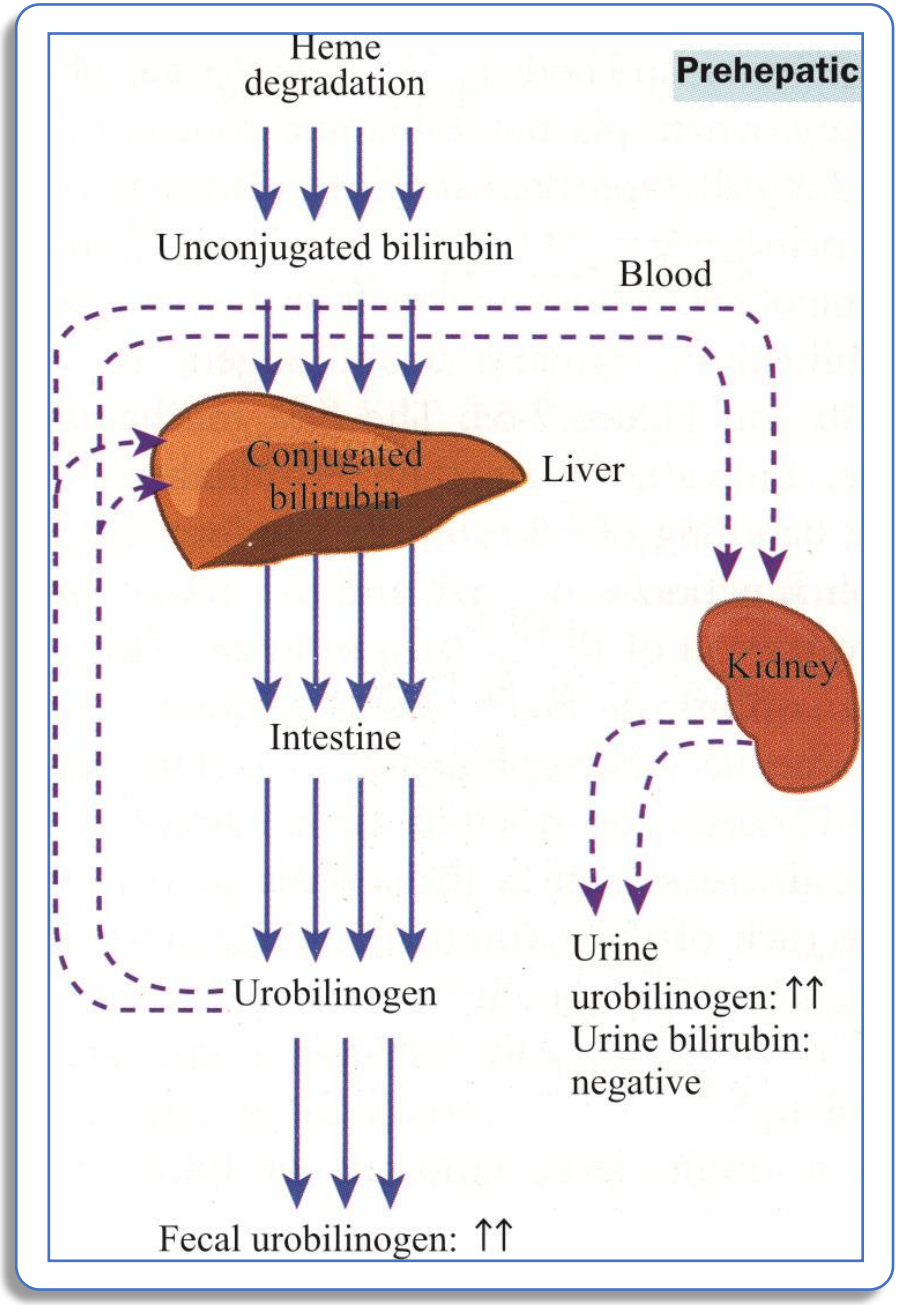
الگوهای تغییر آنزیم‌های کبدی



بیلی‌روبین و اوروبیلینوژن

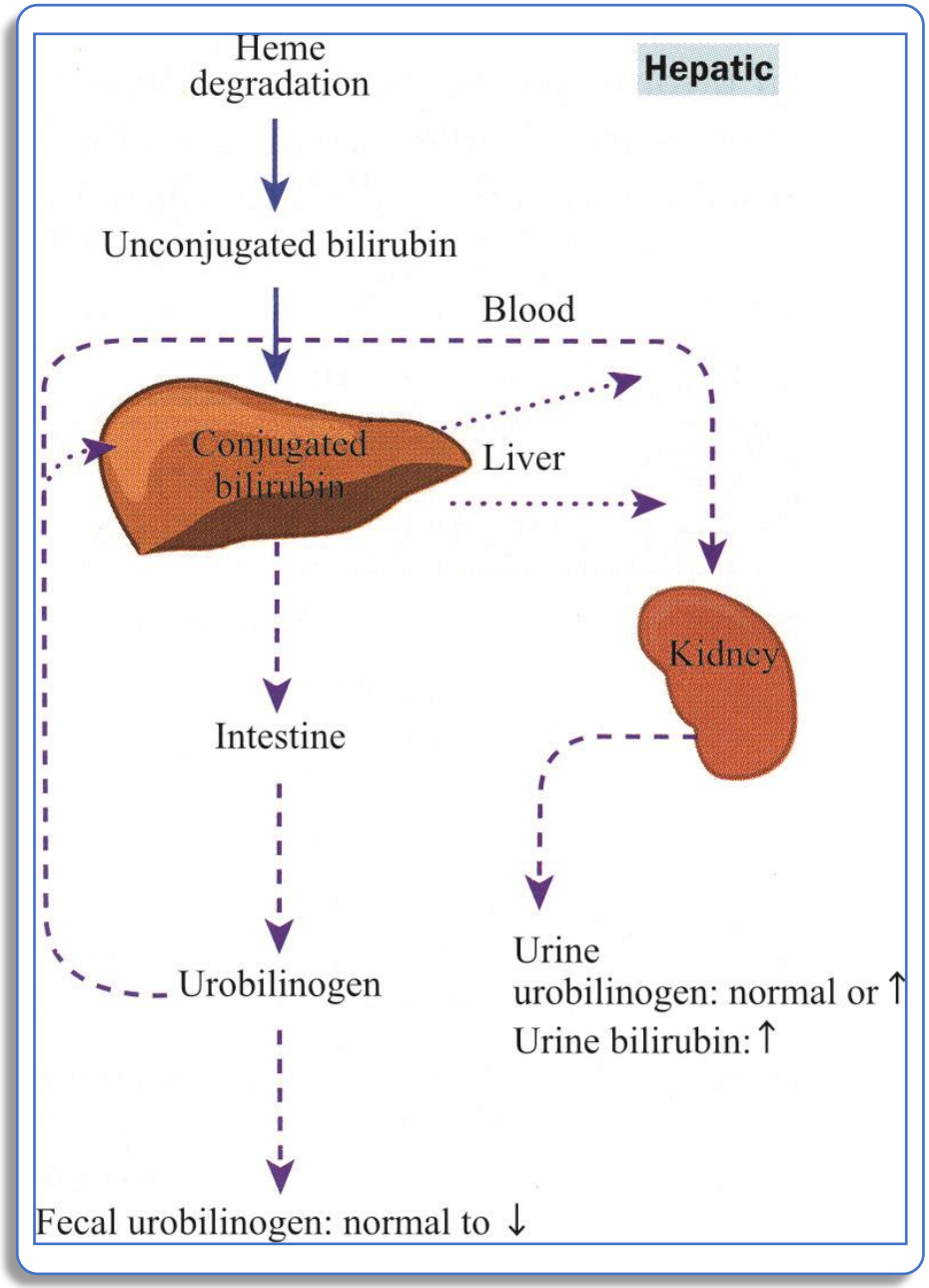
متابولیسم بیلی‌روبین و اوروبیلینوژن در شرایط طبیعی

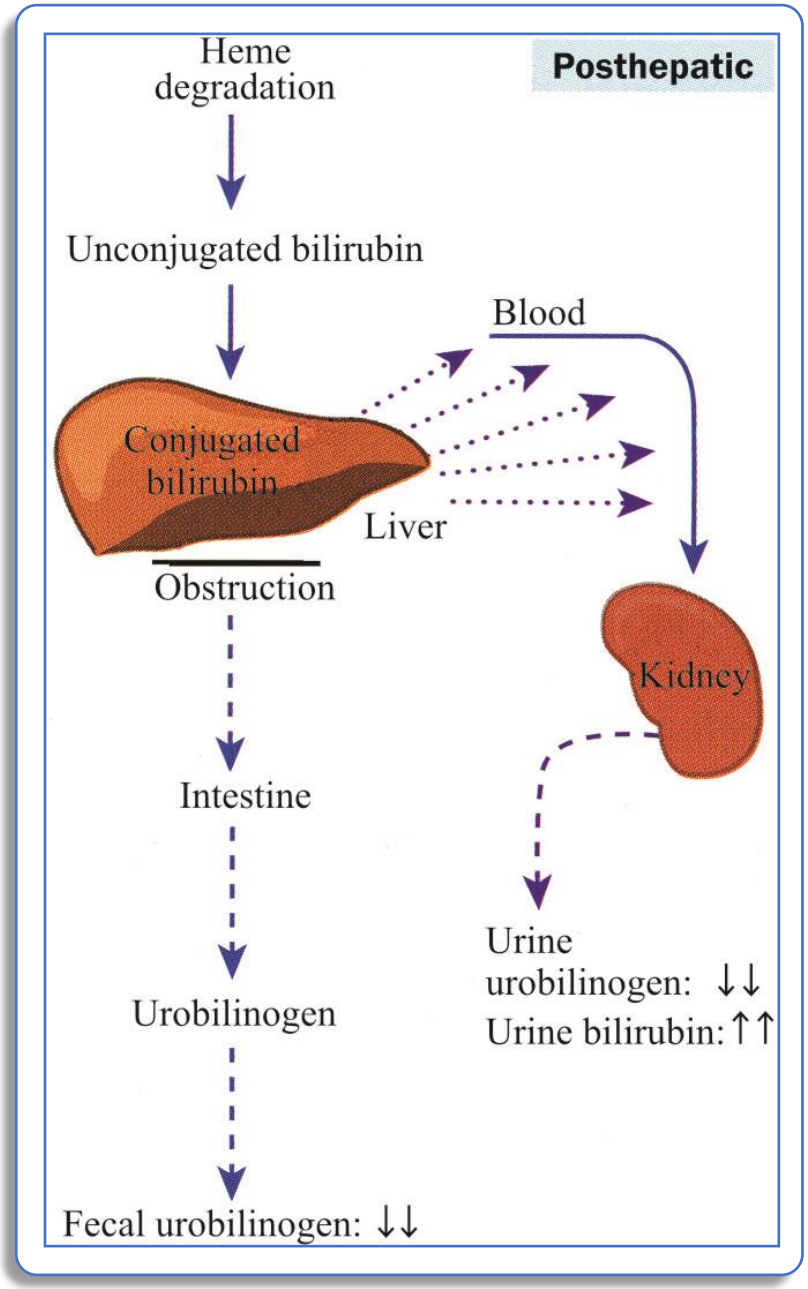




متابولیسم بیلی‌روبین و اوروبیلینوژن در شرایط پاتولوژیک: علل قبل کبدی

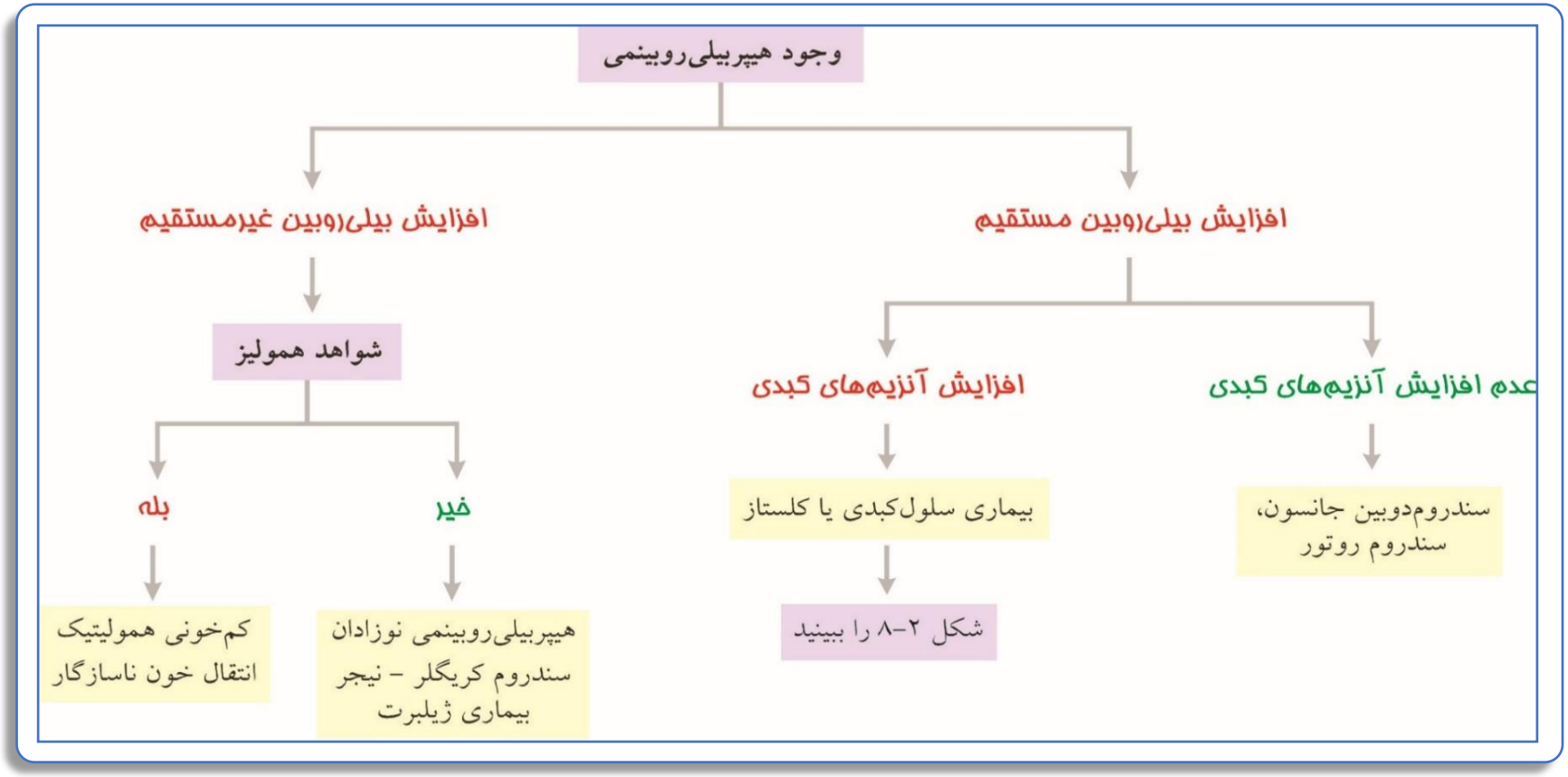
متابولیسم بیلی‌روبین و اوروبیلینوژن در شرایط پاتولوژیک: علل کبدی





متابولیسم بیلی‌روبین و اوروبیلینوژن در شرایط پاتولوژیک: علل بعدکبدی

تشخیص افتراقی علل هیپربیلی‌روبینمی



سایر آنالیت‌ها

پروتئین‌های پلاسمایی

- حساسیت و ویژگی تشخیصی پایین
- الگوی تغییرات پروتئین‌های پلاسمایی

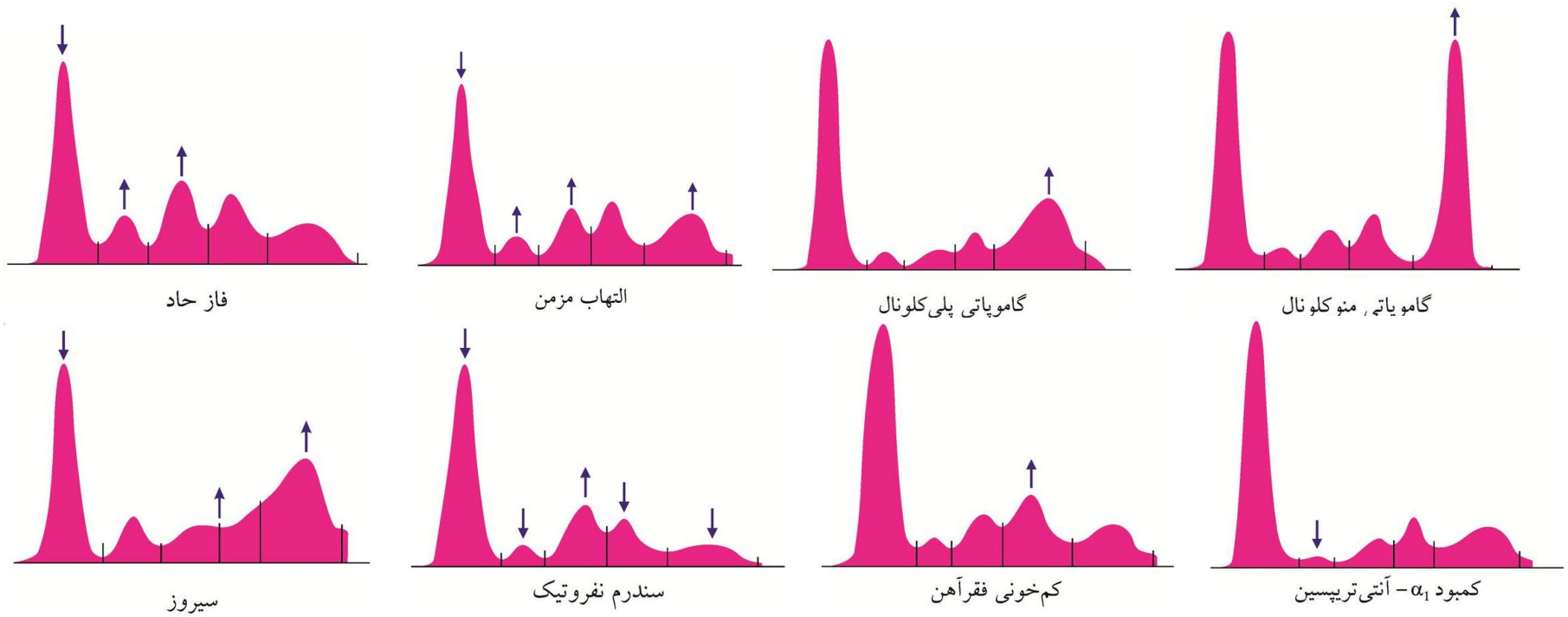
  بیماری کبدی مزمن، حاد، برق‌آسا
- آلبومین در مقابل پروتئین تام

  مزمن‌بودن و شدت بیماری کبدی
- فاکتورهای انعقادی (زمایش PT)

  PT سریال برای پایش پیشرفت و تعیین پیش‌آگهی

  PT قبل و بعد تزریق ویتامین K برای تمایز کلستاز از بیماری سلول کبدی

الکتروفورز پروتئین‌های سرم



قسمت دوم

بیماری‌های کبدی و ارزیابی آزمایشگاهی آنها

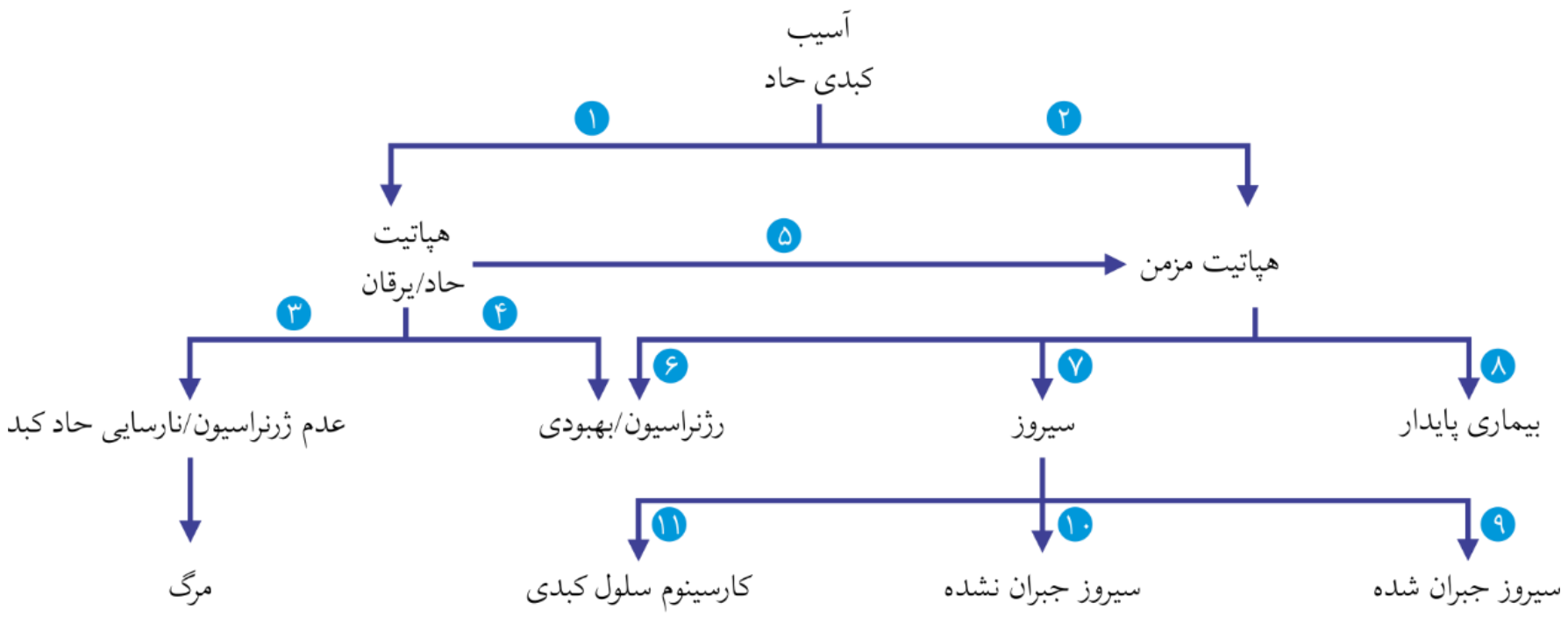
بیماری‌های کبدی و ارزیابی آزمایشگاهی آنها

- بیماری‌های متابولیکی
- بیماری‌کبدی سمّی و تغذیه‌ای
- هپاتیت عفونی
- بیماری‌های خودایمنی کبد
- بیماری‌های صفراوی
- تومورهای کبدی

جدول ۱-۹ انواع بیماری‌های کبدی

نوع	بیماری
متابولیکی	هموکروماتوز، بیماری ویلسون، کمبود آنتی‌تریپسین
سمی و تغذیه‌ای	الکل، دارو، مواد غذایی
عفونی	هپاتیت A، هپاتیت B، هپاتیت C، هپاتیت D، هپاتیت E، هپاتیت G
خودایمنی	هپاتیت خودایمنی، سیروز صفراوی اولیه، کلانژیت اسکلروزان
صفراوی	آترزی صفراوی، کلستاز، کله‌سیستیت
نئوپلاسم	سرطان سلول کبدی، تومورهای صفراوی

عاقبت آسیب حاد کبد



بیماری‌های متابولیکی کبدی

- **هموکروماتوز**

افزایش آهن، فریتین و درصد اشباع ترانسفرین

- **بیماری ویلسون**

کاهش سرولوپلاسمین و مس تام سرم به همراه افزایش دفع ادراری مس

- **کمبود α_1-آنتی‌تریپسین**

کاهش α_1-آنتی‌تریپسین

بیماری‌های کبدی سمّی و تغذیه‌ای

- بیماری کبدی الکلی

افزایش GGT، AST، AST/ALT Ratio، HDL و MCV

- بیماری کبدی ناشی از دارو
- بیماری تغذیه‌ای کبد و کبد چرب

احتمال افزایش فعالیت آمینوترانسفرازها

جدول ۴-۹ بیماری‌های کبدی ناشی از مصرف داروها

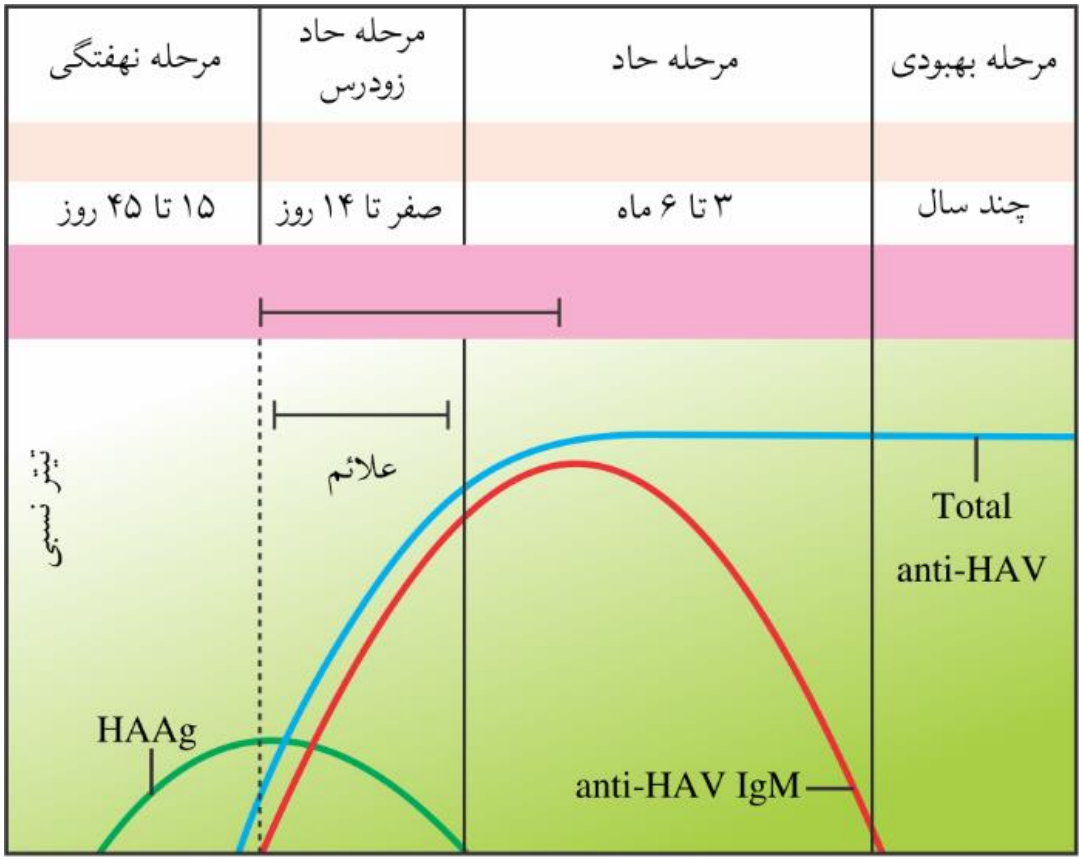
نوع بیماری	دارو
هپاتیت حاد	هالوتان، فنی‌توئین، متیل‌دوپا، ایزونیازید، استاتین‌ها، دیورتیک های تیازیدی
هپاتیت حاد برق‌آسا	هالوتان، استامینوفن، تتراسیکلین، ایزونیازید، متیل‌دوپا، والپروات، مهارکننده‌های منوآمین اکسیداز، اکستازی
هپاتیت مزمن	استاتین‌ها، متیل‌دوپا، نیتروفورانتوئین
سیروز	متوترکسات
کلستاز	استروئیدهای‌انابولیک، داروهای ضدبارداری خوراکی، فنوتیازین‌ها، اریترومایسین، داروهای ضدتیروئید، داروهای هیپوگلیسمیک خوراکی

هپاتیت ویروسی

جدول ۶-۹ خصوصیات انواع ویروس‌های هپاتیت

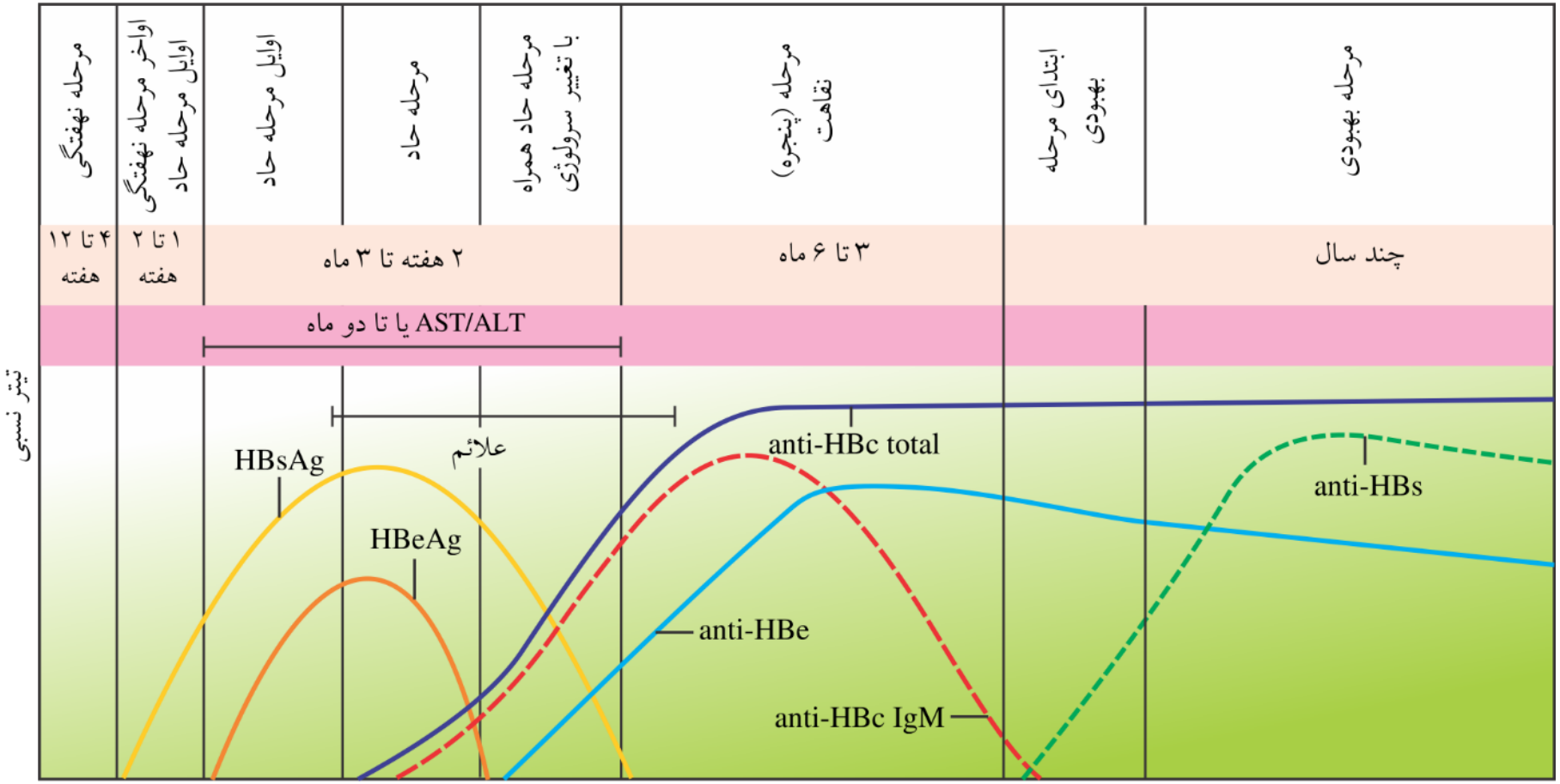
خصوصیات		هپاتیت A	هپاتیت B	هپاتیت C	هپاتیت D	هپاتیت E	هپاتیت G
ژنوم		RNA	DNA	RNA	نسبی	RNA	RNA
دوره نهفتگی (روز)		۴۵-۵۰	۳۰-۱۵۰		۴۰-۱۵۱	۲۰-۳۰	نامشخص
انتقال	گوارشی	بلی	خیر	حداقل	خیر	بلی	خیر
	خانگی	بلی	حداقل	حداقل	بلی	بلی	خیر
	مادر به جنین	خیر	بلی	حداقل	بلی	خیر	بلی
	خونی	نادر	بلی	بلی	بلی	نامشخص	بلی
	جنسی	خیر	بلی	حداقل	بلی	نامشخص	بلی
تشخیص		anti-HAV IgM Total anti-HAV RT-PCR	HBsAg، anti-HBc IgM، PCR	anti-HCV، PCR	anti-HDV IgG، anti-HDV IgM، HDV Ag یا HDV RNA	anti-HEV IgG anti-HEV IgM RT-PCR	anti-HGV RT-PCR

هپاتیت ویروسی A



گذشت زمان بعد از تماس با HAV

هپاتیت ویروسی B



گذشت زمان بعد از تماس با HBV

هپاتیت ویروسی B

جدول ۷-۹ نتایج آزمایش‌های سرولوژیکی و PCR در شرایط مختلف عفونت با ویروس هپاتیت B

وضعیت	HBsAg	HBsAb	Total anti-HBc	IgM anti-HBc	HBeAg	HbeAb	HBV DNA
عدم‌برخورد با HBV	منفی	منفی	منفی	منفی	–	–	–
مراحل ابتدایی عفونت حاد	مثبت	منفی	منفی	منفی	–	–	–
عفونت حاد	مثبت	منفی	مثبت	مثبت	–	–	–
بهبودی عفونت حاد	منفی	منفی یا مثبت	مثبت	مثبت	–	–	–
بهبودی ناشی از عفونت قبلی و مصون	منفی	مثبت	مثبت	منفی	–	–	–
عفونت مزمن فعال	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	بالا
عفونت مزمن غیرفعال	مثبت	منفی	مثبت	منفی	منفی	مثبت	نسبتاً بالا
حامل غیرفعال	منفی	منفی	مثبت	منفی	منفی	مثبت	پایین تا عدم‌آشکارسازی
واکسیناسیون یا تجویز ایمونوگلبولین ضدHBV	منفی	مثبت	منفی	منفی	–	–	–

بیماری‌های خودایمنی کبد

- **Autoimmune hepatitis (AIH)**

  AIH-1, AIH-2

- **Primary biliary cirrhosis (PBC)**
- **Sclerosing cholangitis**

  PSC, ASC

اتوآنتی‌بادی‌ها در بیماری‌های خودایمنی کبد

- Antinuclear antibody (ANA)
- Anti-smooth muscle antibody (ASMA)
- Anti-liver-kidney microsomes (anti-LKM1)
- Anti-liver cytosol type-1 (anti-LC-1)
- Anti-soluble liver antigen/liver-pancrease antigen (anti-SLA/LP)
- Anti-mitochondrial antibody (AMA)
- Perinuclear-type anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA)

بیماری‌های خودایمنی کبد و اتوآنتی‌بادی‌ها

- **Autoimmune hepatitis (AIH)**

  AIH-1 : ANA, ASMA, anti-SLA-LP

  AIH-2 : anti-LKM1, anti-LC1

- **Primary biliary cirrhosis (PBC)**

  AMA (AMA-A2), ANA

- **Sclerosing cholangitis**

  PSC : p-ANCA

  ASC : ASMA, ANA

بیماری‌های خودایمنی کبد

جدول ۸-۹ اتوآنتی‌بادی‌های تولیدی در بیماری‌های خودایمنی کبد

نام اتوآنتی‌بادی	مخفف	آنتی‌ژن احتمالی	بیماری مرتبط
آنتی‌بادی ضدعضله صاف	ASMA	اکتین F	AIH-1، ASC، CAH
آنتی‌بادی ضدآنتی‌ژن محلول کبدی/آنتی‌ژن کبدی-پانکراسی	anti-SLA / LP		AIH-1
آنتی‌بادی ضدمیکروزوم‌های کلیه-کبد	anti-LKM1	CYP2D6	AIH-2، CAH، HCV
آنتی‌بادی ضدآنتی‌ژن سیتوزولی کبد	anti-LC1	FTCD	HIA-2، CAH، HCV
آنتی‌بادی ضدمیتوکندری	AMA	E2/PDH	PSC
آنتی‌بادی ضدهسته	ANA	Gp210، Sp100	AIH-1، PBC، CAH
آنتی‌بادی ضدنوتروفیلی سیتوپلاسمی دورهسته‌ای	pANCA		PSC

AIH, Autoimmune hepatitis; ASC, Autoimmune sclerosing cholangitis; AMA; Anti-mitochondrial Antibody; ANA, anti-nuclear Antibody; anti-LC1, anti-Liver cytosol type 1; anti-LKM1, Anti-Liver-kidney microsomes; Anti-SLA / LP, Anti-Soluble liver antigen/liver-pancreas antigen; ASMA, Anti-smooth muscle antibody; CAH, Cryptogenic autoimmune hepatitis; CYP2D6, Cytochrome P450 IID6. FTCD, Formiminotransferase cyclodeamidase; E2/PDH; E2 subunit of pyruvate dehydrogenase complex; HCV, Hepatitis C virus; p-ANCA, Perinuclear-type antineutrophil cytoplasmic antibody; PBC; Primary biliary cirrhosis; PSC, Primary sclerosing cholangitis.

قسمت سوم

جنبه‌های آزمایشگاهی

جنبه‌های آزمایشگاهی

- لاکتات دهیدروژناز (LD)
- آمینوترانسفرازها (ALT & AST)
- فسفاتاز قلیایی (ALP)
- گاما-گلوتامیل ترانسفراز (GGT)
- بیلی‌روبین

لاکتات دهیدروژناز (LDH)

توزیع بافتی و موارد افزایش لاکتات دهیدروژناز

جدول ۴-۸ درصد نسبی ایزوزیم‌های LD در بافت‌های مختلف

بافت یا سلول	LD1	LD2	LD3	LD4	LD5
سرم	۲۵	۳۵	۲۰	۱۵	۵
قلب	۴۵	۴۰	۱۰	۵	۰
گلبول قرمز	۴۰	۳۵	۱۵	۱۰	۰
قشر کلیه	۳۵	۳۰	۲۰	۱۵	۰
ریه	۱۰	۱۵	۴۰	۳۰	۵
عضله اسکلتی	۰	۰	۱۰	۳۰	۶۰
کبد	۰	۵	۱۰	۱۵	۷۰

- آسیب سلول کبدی
- آسیب عضله قلب
- اختلالات گلبول قرمز
- آسیب عضله عضلانی
- آنفارکتوس ریه
- بیماری مزمن کلیه
- سرطان، لوسمی، لنفوم، مولتیپل میلوما

مرحله قبل‌آزمایش: شرایط بیمار

- وضعیت بدن و استاز وریدی
- فعالیت و تزریق عضلانی
- انتقال خون
- تغییرات شبانه‌روزی در زنان

مرحله قبل آزمایش: شرایط نمونه

- سرم یا پلاسمای هپارینه
- همولیز
- حساسیت به سرما
- پایداری برای ۳ روز در حرارت اتاق
- نگهداری در یخچال بعد از افزودن NAD^+ یا گلوتاتیون

مرحله آزمایش

- واحدکاتالیز واکنش

$$\text{Lactate} + \text{NAD}^+ \underset{\text{pH} = ۷٫۱–۷٫۴}{\overset{\text{pH } ۸٫۳–۸٫۹}{\rightleftharpoons}} \text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

- اندازه‌گیری به طریق

UV اسپکتروفتومتری

کالریمتری با ۲،۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین

مرحله آزمایش

- گروه‌های تیول
- اگزالات
- لاکتات
- پیرووات
- EDTA

کادر ۱-۵ مزایای آزمون‌های اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز

- **آزمون‌های تبدیل لاکتات به پیرووات (واکنش رفت)**

۱. اثر مهاری سوبسترای لاکتات کمتر از مهار حاصل از پیرووات می‌باشد.
۲. در فرآورده NAD^+، مهارکننده‌های LD کمتر است.
۳. واکنش تبدیل لاکتات به پیرووات بیشتر خطی است.
۴. اختصاصی‌تر است.

- **آزمون‌های تبدیل پیرووات به لاکتات (واکنش برگشت)**

۱. سرعت واکنش تبدیل پیرووات به لاکتات سه برابر واکنش تبدیل لاکتات به پیرووات می‌باشد.
۲. نیاز به نمونه کمتر است.
۳. معرف‌های کمتری مورد نیاز است، پس این آزمون‌ها ارزان‌تر هستند.
۴. زمان کوتاه‌تری لازم است.
۵. تغییر جذب نسبت به زمان بیشتر بوده و بنابراین آزمون دقیق‌تر است.
۶. پایداری معرف‌ها بیشتر است.

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج با واحد **U/L**
- دامنه مرجع وابسته به روش و سن
- دامنه مرجع با روش **IFCC** در **37°C**

- ***Children : 180 - 360 U/L***
- ***Adult : 125 - 220 U/L***

آمینوترانسفرازها (ALT & AST)

توزیع بافتی آمینوترانسفرازها و موارد افزایش آنها

جدول ۵-۸ نسبت فعالیت آسپارتات ترانس‌آمیناز (AST) و آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) در بافت‌های مختلف به فعالیت سرمی آنها

بافت یا سلول	AST	ALT
قلب	۷۸۰۰	۴۵۰
کبد	۷۱۰۰	۲۸۵۰
عضله اسکلتی	۵۰۰۰	۳۰۰
کلیه‌ها	۴۵۰۰	۱۲۰۰
پانکراس	۱۴۰۰	۱۳۰
طحال	۷۰۰	۸۰
ریه‌ها	۵۰۰	۴۵
گلبول‌های قرمز	۱۵	۷
سرم	۱	۱

- آسیب سلول کبدی
- آسیب عضله قلب
- آسیب عضله عضلانی
- آسیب کلیوی
- آسیب پانکراس
- آسیب طحال
- آسیب ریه
- همولیز

مرحله قبل آزمایش

- سرم یا پلاسمای هپارینه
- همولیز
- حدود ۳ تا ۴ روز در یخچال و طولانی‌تر در $-20^{o}C$

مرحله آزمایش

$$\text{Ala} + \alpha - \text{KG} \xrightarrow[\text{PLP}]{\text{ALT}} \text{Pyruvate} + \text{Glu}$$

$$\text{Asp} + \alpha - \text{KG} \xrightarrow[\text{PLP}]{\text{AST}} \text{Oxaloacetate} + \text{Glu}$$

- ضرورت توجه به وجود PLP

مرحله آزمایش

- روش UV اسپکتروفتومتری

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LD}} \text{Lactate} + \text{NAD}^+$$

$$\text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{MD}} \text{Malate} + \text{NAD}^+$$

- روش شیمیایی (ریمتن-فرانکل)

با استفاده از ۲،۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج با واحد **U/L**
- دامنه مرجع وابسته به روش و جنس
- دامنه مرجع با یکی از روش‌ها

- **AST**

Female : Up to 31 U/L *Male : Up to 35 U/L*

- **ALT**

Female : Up to 34 U/L *Male : Up to 45 U/L*

فسفاتاز قلیایی (ALP)

توزیع بافتی و موارد افزایش فسفاتاز قلیایی

- کبد
- استخوان
- روده
- جفت
- بافت سرطانی

کادر ۱-۸ **موارد افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی سرم**

- **بیماری‌های کبدی-صفراوی**

انسداد صفراوی
ضایعات اشغال‌کننده فضا (گرانولوم، آبسه، تومور)
هپاتیت ویروسی
سیروز

- **بیماری‌های استخوانی**

بیماری پاژه
تومور استخوان (اولیه و متاستاتیک)
استئومالاسی و راشیتیسم
هیپرپاراتیروئیدیسم

- **سرطان‌های غیرکبدی غیراستخوانی**

تومورهای سلول زایا
کارسینوم‌های ریه، پستان، تخمدان

- **علل فیزیولوژیک**

ترمیم شکستگی‌ها
رشد طبیعی
بارداری (سه ماهه سوم)

- **سایر موارد**

بیماری روده (آنفارکتوس، التهاب، پرفوراسیون)
افزایش خوش‌خیم خانوادگی
افزایش خوش‌خیم موقتی

مرحله قبل آزمایش: شرایط بیمار

- مصرف غذا (تأثیر نوع غذا، گروه خونی، سوبسترا)
- وضعیت بدن و استاز وریدی
- انتقال خون
- مقادیر بالا در کودکان و خانم های باردار

مرحله قبل‌آزمایش: شرایط نمونه

- سرم یا پلاسمای هپارینه

  نیاز به Mg و Zn

- اثر همولیز
- افزایش فعالیت سرمی با نگهداری و بعد از محلول‌سازی نمونه‌های سرم لیوفلیزه

  تجزیه کمپلکس فسفاتاز قلیایی-لیپوپروتئین

  کاهش مهارکننده‌های آنزیمی

- نگهداری تا یک هفته در یخچال و برای مدت بیشتر در $-20^{o}C$

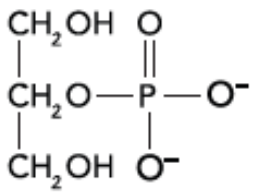
مرحله آزمایش : روش اندازه‌گیری

فسفات + محصول آلی دفسفریله ⟵ H_2O + سوبسترای آلی فسفریله

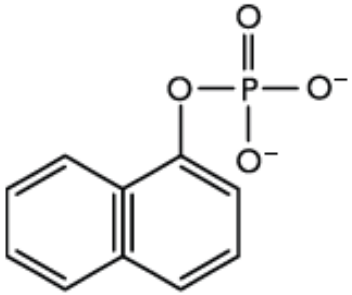
- تأثیر سوبسترا و بافر مورد استفاده

Method	Substrate
Kay-Bodansky	B-Glycerophosphte
King-Armstrong	Phenylphosphate
Bessey-Lowry-Brock	*P*-NitroPhenylphosphate

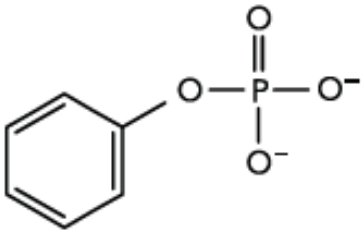
مرحله آزمایش : سوبستراها



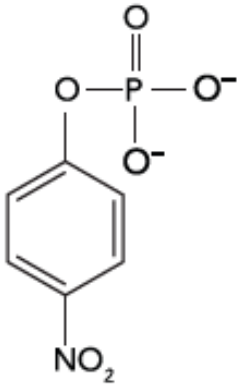
β-Glycerophosphate



α-Naphtylphosphate

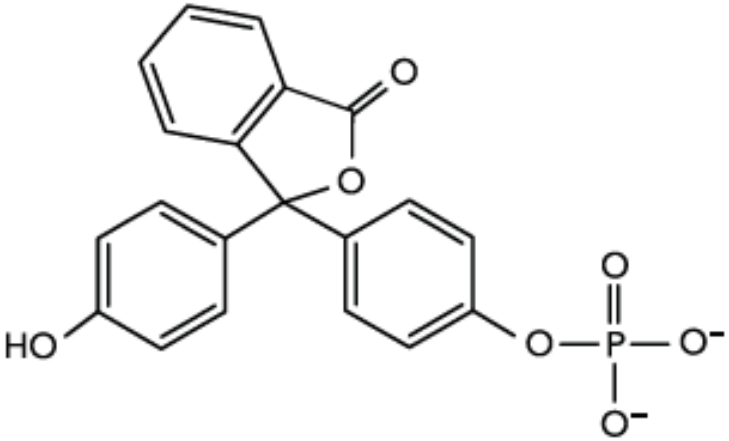


β-Phenylphosohate

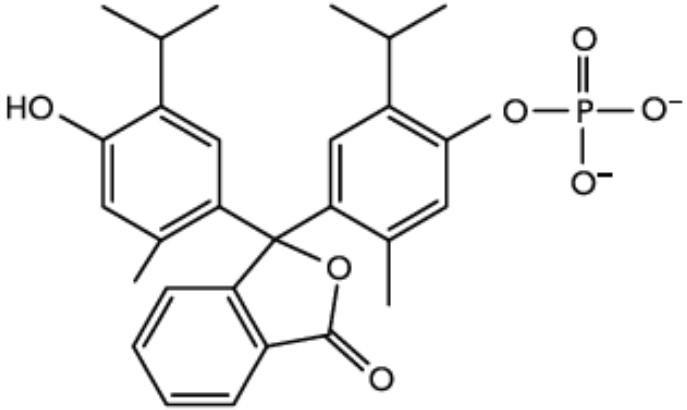


p-Nitrophenylphosphate

مرحله آزمایش : سوبستراها

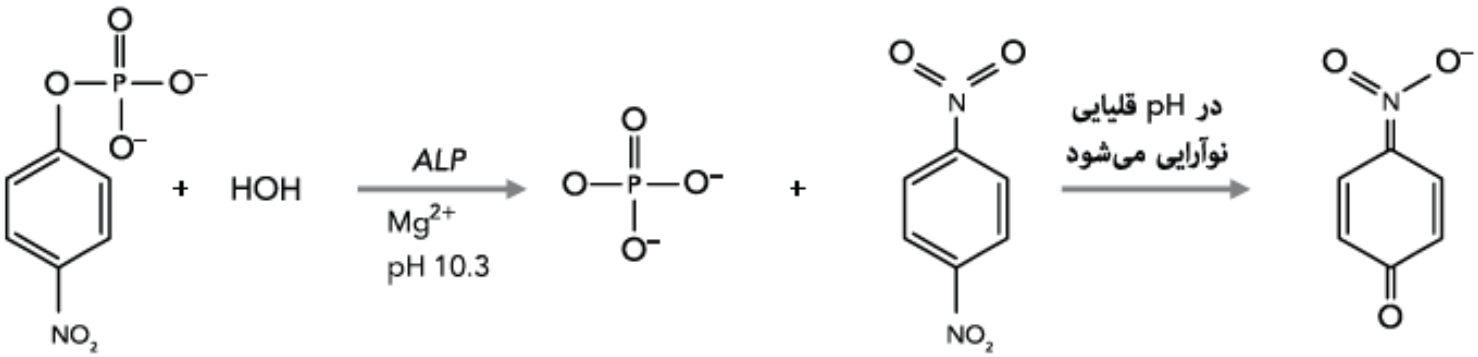


Phenolphetaleine monophosphate



Thymolphetalein monophosphate

مرحله آزمایش : روش کینتیک



4-Nitrophenyl phosphate (colorless)

4-Nitrophenoxide (colorless benzenoid form)

4-Nitrophenoxide (yellow,quinonoid form)

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج با واحد U/L
- دامنه مرجع وابسته به سن، جنس، بارداری و روش

جدول ۵-۵ دامنه مرجع فعالیت فسفاتاز قلیایی سرم با روش IFCC

جنس	سن	دامنه مرجع
دختر-پسر	۴ تا ۱۵ سال	۵۴-۳۶۹ U/L
مرد	۲۰ تا ۵۰ سال	۵۳-۱۲۸ U/L
	برابر یا بیش از ۶۰ سال	۵۶-۱۱۹ U/L
زن	۲۰ تا ۵۰ سال	۴۲-۹۸ U/L
	برابر یا بیش از ۶۰ سال	۵۳-۱۴۱ U/L

گاما-گلوتامیل ترانسفراز (GGT)

فعالیت گاما-گلوتامیل ترانسفراز

- کلیه
- روده
- کبد
- پانکراس

Glutathione + Amino Acid ⟶
Cysteinyl glycine + Glutamyl amino acid

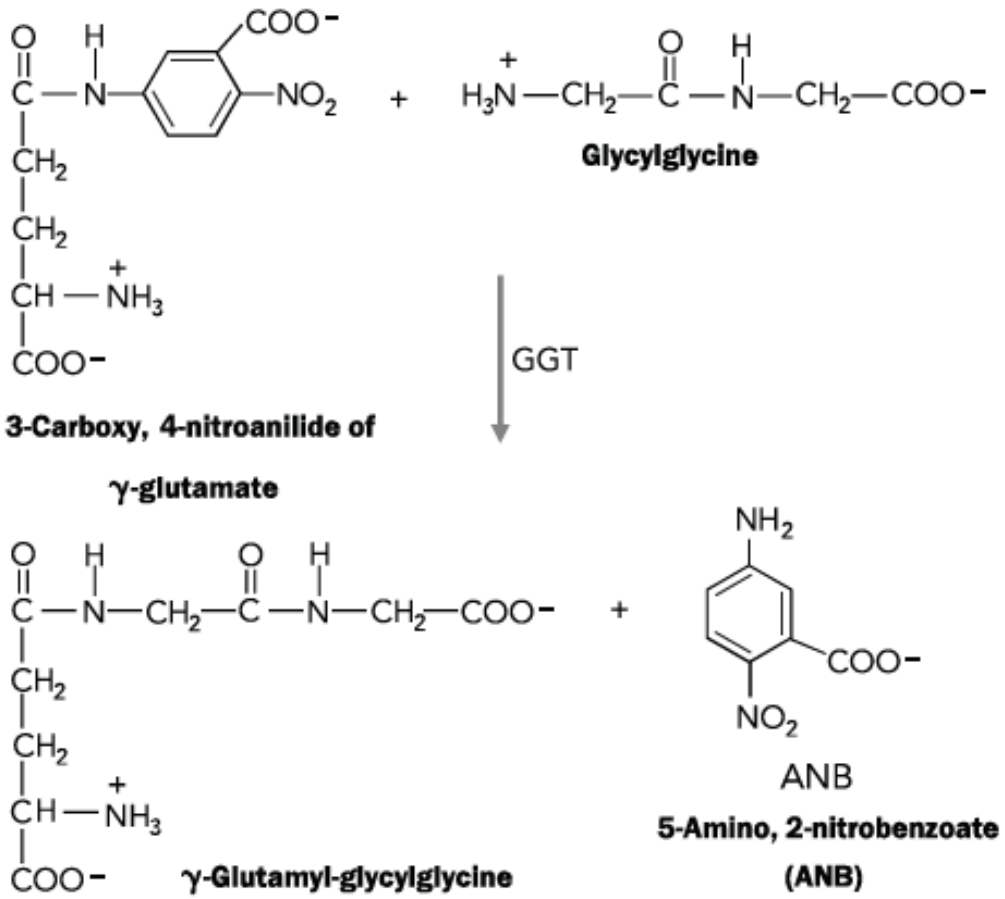
موارد افزایش گاما-گلوتامیل ترانسفراز

- انسداد صفراوی
- مصرف دارو و الکل
- پانکراتیت

مرحله قبل آزمایش

- سرم یا پلاسمای EDTA
- همولیز
- پایدار برای یک ماه در یخچال و یک سال در -20°C

مرحله آزمایش



- اندازه‌گیری جذب نوری ANB در 410 nm

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج با واحد U/L
- دامنه مرجع وابسته به روش و جنس
- دامنه مرجع با روش IFCC

- *Female : Up to 40 U/L*
- *Male : Up to 70 U/L*

بیلی‌روبین مستقیم و غیرمستقیم

هیپربیلی‌روبینمی

- **غیرمستقیم**

آنمی همولیتیک، انتقال خون ناسازگار، هیپربیلی‌روبینمی نوزادان

سندروم کریگلر-نیجر ، بیماری ژیلبرت

- **مستقیم**

انسداد صفراوی، سندروم دوبین-جانسون، سندروم روتور

- **مخلوط**

هپاتیت

مرحله قبل آزمایش

- سرم یا پلاسما
- همولیز و لیپمی
- حساسیت به نور
- در تاریکی، پایدار برای یک هفته در یخچال و سه ماه در $-20^{o}C$

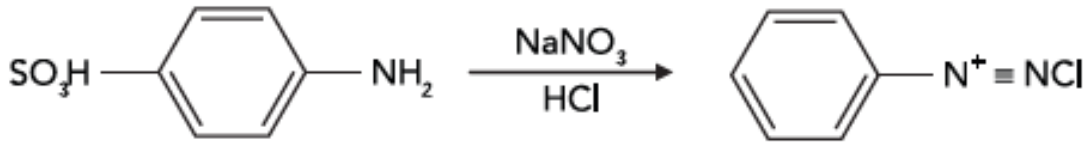
مرحله آزمایش : روش اندازه‌گیری

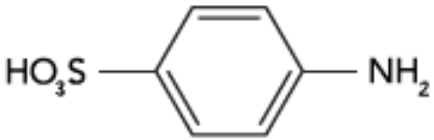
- بیلی‌روبینومتری

$$\text{بیلی‌روبین (mg/dL)} = (A_{454} - A_{540})\ ۱۱٫۹ \times \text{فاکتور رقت}$$

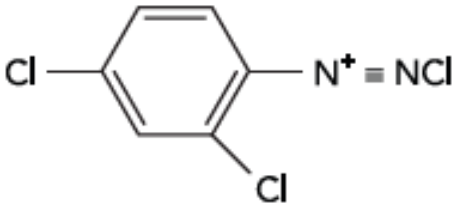
- اندازه‌گیری از طریق پوست
- روش دی‌آزو

روش دی‌آزو: تولید نمک دی‌آزونیوم

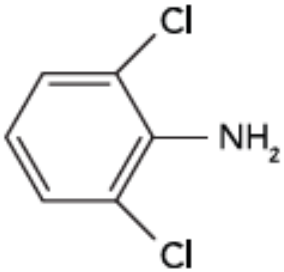




Sulfonic acid

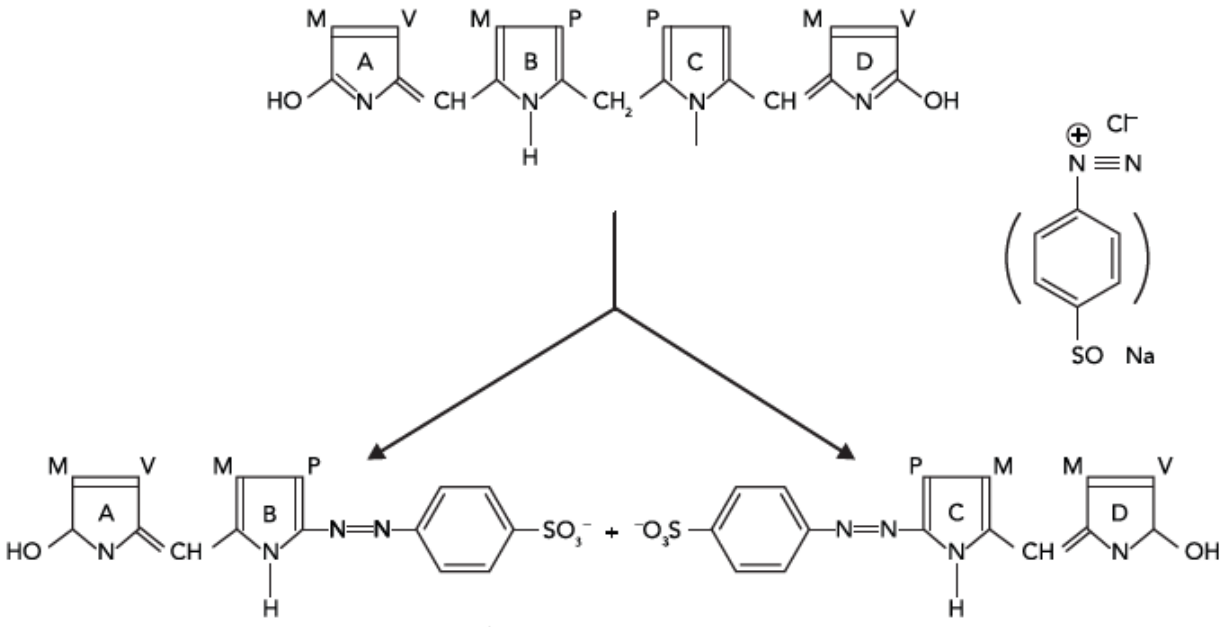


2,4-Dichloroaniline



2,6-Dichloroaniline

روش دی‌آزو: واکنش بیلی‌روبین با تولید نمک دی‌آزونیوم



روش‌های دی‌آزو

- روش Malloy-Evelin : *استفاده از متانل*
- روش Jendrassik-Grof : *استفاده از کافئین بنزوات*

کادر ۱–۸ مزایای روش ژندراسیک–گروف در مقایسه با روش مالوی–اِوِلین برای اندازه‌گیری بیلی‌روبین
• تحت تأثیر تغییرات pH قرار نمی‌گیرد
• به تغییرات ۵۰ برابر غلظت پروتئین‌های نمونه حساس نیست
• حساسیت نوری مطلوبی حتی به مقادیر کم بیلی‌روبین دارد
• حداقل کدورت را ایجاد می‌کند و دارای یک بلانک سرم نسبتاً ثابت است
• تحت تأثیر هموگلوبین تا غلظت ۷۵ mg/dL قرار نمی‌گیرد

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج با واحد mg/dL یا µmol/L

$$\text{Bilirubin}_{(\mu mol/L)} = \text{Bilirubin}_{(mg/dL)} \times ۱۷/۱$$

- دامنه مرجع وابسته به روش، سن و جنس

جدول ۲-۸ دامنه مرجع مقادیر بیلی‌روبین با یکی از روش‌های اندازه‌گیری به‌عنوان راهنما

جمعیت	نوع بیلی‌روبین	دامنه مرجع
نوزاد نارس	تام در ۲۴ ساعت	۱/۰ – ۸/۰ mg/dL
	تام در ۴۸ ساعت	۶/۰ – ۱۲/۰ mg/dL
	تام در سه تا پنج روز	۱۰/۰ – ۱۴/۰ mg/dL
نوزاد رسیده	تام در ۲۴ ساعت	۲/۰ – ۶/۰ mg/dL
	تام در ۴۸ ساعت	۶/۰ – ۱۰/۰ mg/dL
	تام در سه تا پنج روز	۴/۰ – ۸/۰ mg/dL
بالغین	تام	۰/۰ – ۱/۰ mg/dL
	کونژوگه	۰/۰ – ۰/۲ mg/dL
	غیرکونوگه	۰/۰ – ۰/۸ mg/dL

آمونیاک (Ammonia)

آمونیاک

- دارای اثرات سمّی
- تبدیل به اوره غیرسمّی در کبد
- افزایش مقادیر

بیماری کبدی پیشرفته

بیماری متابولیکی

مرحله قبل‌آزمایش

- استفاده از پلاسمای هپارین فاقد آمونیوم یا EDTA
- قراردادن بر روی یخ
- جداسازی با سانتریفوژ یخچال‌دار
- همولیز
- استعمال دخانیات
- ورود هوا به داخل سرنگ یا لوله
- پایدار برای چند روز در $-20^{o}C$

مرحله آزمایش

- الکترود انتخابی یون
- روش آنزیمی

$$\alpha-\text{Ketoglutarate} + NH_4^+ + NAPDH + H^+ \xrightarrow{GDH} \text{Glutamate} + NADP^+ + H_2O$$

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج برحسب µg/dL یا µmol/L

$$\text{Ammonia}_{(\mu mol/L)} = \text{Ammonia}_{(\mu g/dL)} \times ۰٫۵۹$$

- دامنه مرجع وابسته به روش و سن

جدول ۷-۷ دامنه مرجع پیشنهادی برای آمونیاک پلاسمایی

	برحسب µg/dL	برحسب µmol/L
کودکان ۱۰ روز تا ۲ سال	۶۸-۱۳۶	۴۰-۸۰
بالغین	۱۹-۶۰	۱۱-۳۵

آزمایش‌های مرتبط با پروتئین‌ها

آزمایش‌های مرتبط با پروتئین‌ها

- پروتئین تام
- آلبومین
- گلبولین‌ها
- الکتروفورز
- فریتین
- ترانسفرین
- سرولوپلاسمین

- هاپتوگلوبین
- α_1–آنتی تریپسین
- β_2–میکروگلبولین
- سیستاتین C
- تروپونین
- NT-proBNP

- IgG
- IgA
- IgM
- IgE
- C3
- C4

آزمایش‌های مرتبط با پروتئین‌ها

جدول ۱-۴ اجزاء پروتئینی معمول سرم که برای اهداف بالینی مختلف در بخش بیوشیمی اندازه‌گیری می‌شوند

آزمایش	کاربرد بالینی در هنگام ارزیابی
آلبومین	سوءتغذیه، بیماری کبدی، بیماری کلیوی، میزان کلسیم سرم
تروپونین	سکته قلبی
فریتین	ذخیره آهن بدن، سرطان کبد
ترانسفرین	متابولیسم آهن
سرولوپلاسمین	بیماری ویلسون
هاپتوگلوبین	همولیز داخل عروقی
α_1-آنتی‌تریپسین	بیماری ریوی، بیماری کبدی
β_2-میکروگلبولین	اختلالات توبولی کلیه، نئوپلاسم‌های سیستم لنفاوی
تروپونین	سکته قلبی
پپتید ناتریورتیک نوع B	نارسایی قلبی
سیستاتین C	میزان فیلتراسیون گلومرولی

مرحله قبل آزمایش: شرایط بیمار

- عدم نیاز به ناشتایی
- توجه به وضعیت بیمار
- توجه به مدت بسته ماندن گارو

مرحله قبل آزمایش: شرایط نمونه

- معمولاً استفاده سرم
- توجه به نمونه همولیز، لیپمی و ایکتری

جدول ۲-۴ پایداری برخی آنالیت‌های پروتئینی نمونه سرم در شرایط حرارتی متفاوت

آنالیت	یخچال (۸°C-۲)	منجمد (۲۰°C-)
پروتئین تام	یک هفته	دو ماه
آلبومین (Alb)	یک هفته	دو ماه
فریتین	یک هفته	دو هفته
ترانسفرین (TRF)	یک هفته	سه ماه
سرولوپلاسمین (CER)	سه روز	یک ماه
هاپتوگلوبین (HAP)	یک هفته	دو هفته
α_1-آنتی‌تریپسین (AAT)	چهار روز	دو ماه
β_2-میکروگلبولین (BMG)	یک هفته	دو هفته
تروپونین I قلبی (cTnI)	پنج روز	یک ماه
تروپونین T قلبی (cTnT)	یک روز	یک ماه
پپتید ناتریورتیک نوع B (BNP)	-	یک سال
انتهای آمینوی پیش‌ساز BNP (NT-proNTP)	یک هفته	یک سال
سیستاتین C	یک هفته	دو ماه
الکتروفورز پروتئین‌های سرم	یک هفته	دو هفته

مرحله آزمایش: روش‌های اندازه‌گیری

- روش‌های رسوبی
- روش‌های کالریمتری

بیوره، اتصال به رنگ (پیروگالول، CBB ، BCG ، BCP)

- ایمونواسی

غیرنشاندار: SRID ، ایمونوتوربیدیمتری نفلومتری

نشاندار : EIA ، FIA ، CLIA یا ECLIA

- الکتروفورز
- ایمونوالکتروفورز

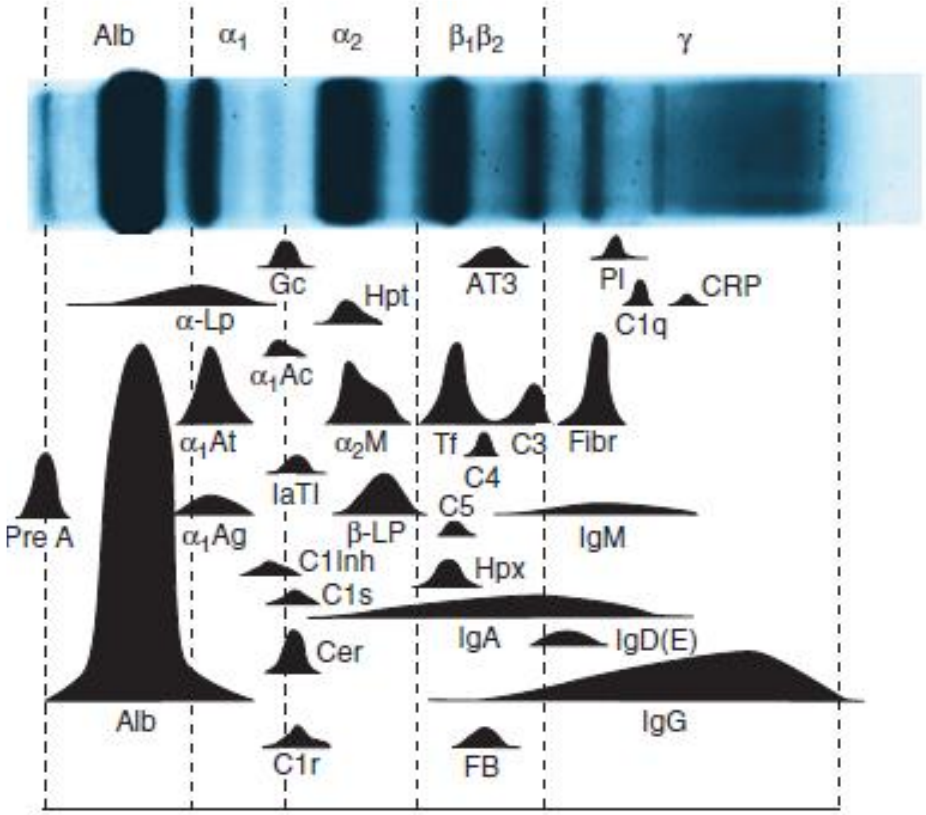
مرحله آزمایش: چالش‌های روش‌های رسوبی و کالریمتری

- واکنش غیراختصاصی روش‌های رسوبی و کالریمتری
- واکنش متفاوت اجزاء پروتئینی نمونه
- تنوع ترکیب پروتئینی نمونه
- ماهیت کالیبراتور
- ردیاب‌پذیری کالیبراتور

مرحله آزمایش: چالش‌های روش‌های ایمونواسی

- ماهیت آنالیت
- نوع آنتی‌بادی مورد استفاده
- تداخل آنتی بادی‌های داخلی
- اثر قلابی
- ماهیت کالیبراتور
- ردیاب‌پذیری کالیبراتور

مرحله آزمایش: چالش‌های روش‌های الکتروفورتیک



- تداخل فیبرینوژن
- تداخل همولیز

حرکت هموگلوبین در ناحیه بتا یا آلفا-۲

- وجود اشکال غیرمعمول ناشی از واریانت های ژنتیکی یا تغییرات بعد از ترجمه

*ترانسفرین، هاپتوگلوبین، **C3***

- وجود **CRP**
- وجود کمپلکس‌های ایمنی

مرحله آزمایش: روش‌های رسوبی

- اسید سولفوسالیسیلیک (SSA)

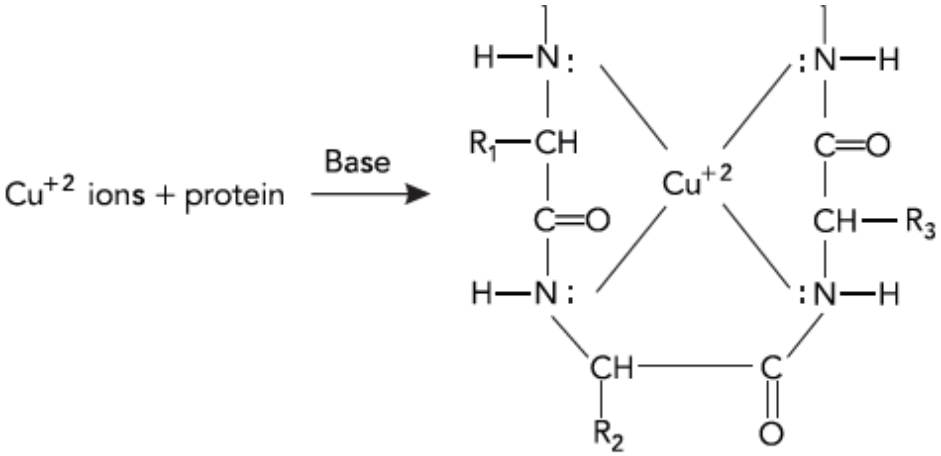
در مقایسه با آلبومین، حساسیت کمتر برای گلبولین‌ها

- اسید تری‌کلرواستیک (TCA)

در مقایسه با آلبومین، حساسیت بیشتر برای γ-گلبولین‌ها

مرحله آزمایش: روش بیوره

- معمول‌ترین روش اندازه‌گیری پروتئین تام سرم
- براساس تولید کمپلکس رنگی بین یون‌های کوپریک و پیوند پپتیدی در محیط قلیایی ملایم
- نیاز به حداقل دو پیوند
- واکنش ضعیف‌تر پروتئین‌های کوچک‌تر
- جذب نوری هموگلوبین و بیلی‌روبین
- کالیبراتور



مرحله آزمایش: روش اتصال به رنگ

- **پیروگالول**

تولید کمپلکس قرمز رنگ با مولیبدات (PRM) با حداکثر جذب در ۴۷۰ nm
تغییر حداکثر جذب به ۶۰۰ nm با اتصال کمپلکس به پروتئین

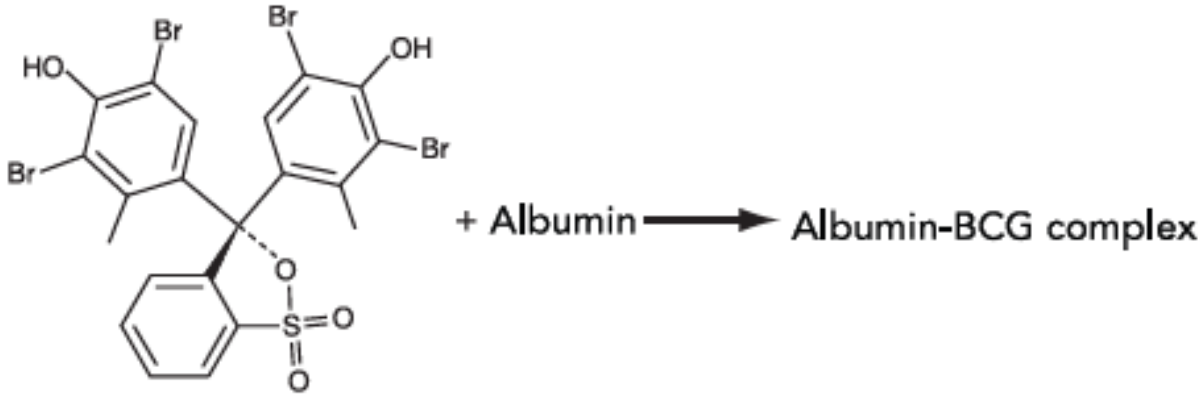
- **کماسی برلینت بلو (CBB)**

اتصال به گروه آمینوی پروتونه؛ تغییر جذب نوری از 465 nm به 595 nm

- **برم‌کرزول گرین (BCG)**
- **برم کرزول پرپل (BCP)**

مرحله آزمایش: روش برم کرزول گرین (BCG)

- برای اندازه‌گیری آلبومین
- واکنش با α_1- و α_2-گلبولین‌ها
  حدود یک سوم، بعد از ۵ دقیقه
- هموگلوبین



مرحله آزمایش: روش برم کرزول پرپل (BCP)

- برای اندازه‌گیری آلبومین
- عدم واکنش با α_1- و α_2-گلبولین‌ها
- وجود عوامل اتصال‌یافته به آلبومین
- بیلی‌روبین

مرحله آزمایش: روش ایمونواسی

- **فریتین**

  توربیدیمتری، EIA، FIA و CLIA

- **ترانسفرین**

  مستقیم به طریق توربیدیمتری یا نفلومتری

  غیر مستقیم به طریق محاسبه

  Transferrin (mg/mL) = 0.7 x TIBC (µg/dL)

- **سرولوپلاسمین**

  توربیدیمتری و نفلومتری

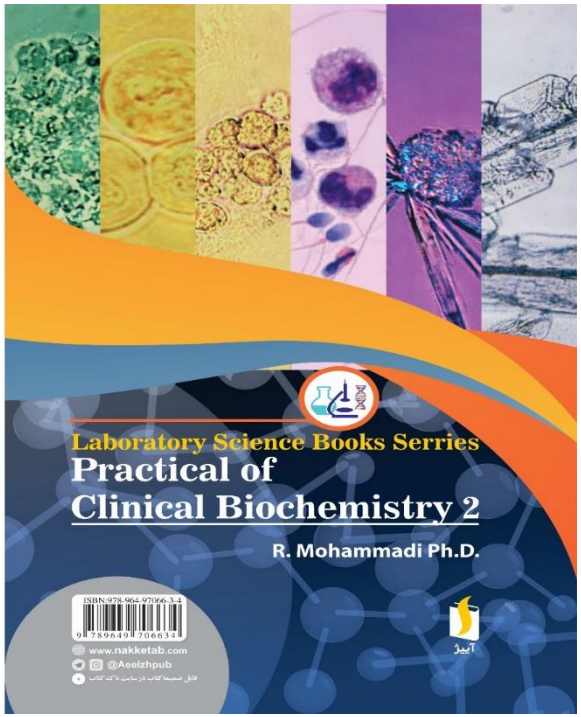
  فعالیت پراکسیدازی

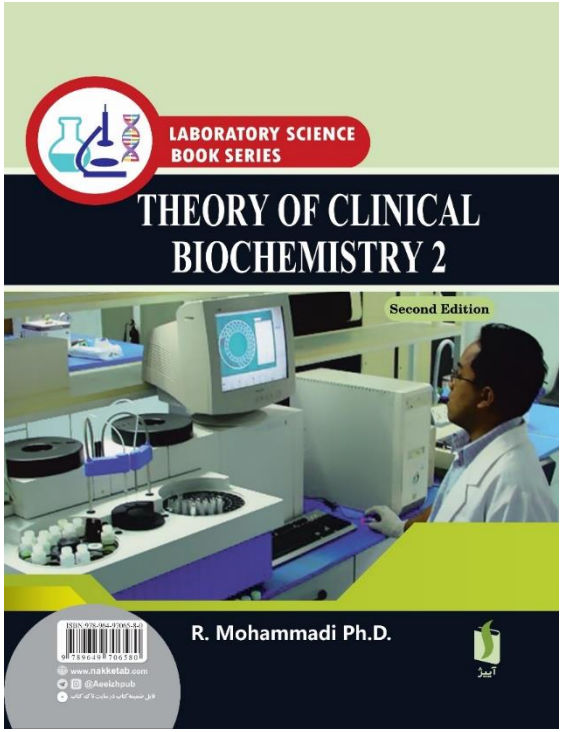
مرحله آزمایش: روش ایمونواسی

- α1-آنتی تریپسین
  توربیدیمتری و نفلومتری
  آزمون مهاری در برابر تریپسین و الاستاز
- هاپتوگلوبین
  توربیدیمتری و نفلومتری
  بر اساس ظرفیت اتصالی هموگلوبین
- β2-میکروگلبولین
  CLIA
- میکروآلبومین
  توربیدیمتری، ***ELISA***

مرحله بعدآزمایش

- گزارش نتایج برحسب واحدهای مختلف
- دامنه مرجع وابسته به روش


Laboratory Science Books Serries
Practical of
Clinical Biochemistry 2
R. Mohammadi Ph.D.
ISBN:978-964-97066-3-4
www.nakketab.com
@Aeeizhpub


LABORATORY SCIENCE
BOOK SERIES
THEORY OF CLINICAL
BIOCHEMISTRY 2
Second Edition
R. Mohammadi Ph.D.
www.nakketab.com
@Aeeizhpub