

VPLYV VEKU A POHLAVIA JEDINCOV NA PRIEMERNÉ HODNOTY AKTIVITY ENZÝMOV V SÉRE PACIENTOV S VYBRANÝMI SKUPINAMI OCHORENÍ
EFFECT OF AGE AND GENDER ON AVERAGE VALUES OF ENZYME ACTIVITIES
IN SERA OF PATIENTS WITH SELECTED DISEASE GROUPS

MATEJOVÁ Monika, KAŠLÍKOVÁ Katarína, KRAJČOVIČOVÁ Zdenka, MELUŠ Vladimír

Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

ABSTRAKT

Enzýmy patria v dnešnej dobe medzi rutinné laboratórne parametre, ktoré majú význam pri mnohých ochoreniach. Naša štúdia sa venuje významu laboratórneho stanovenia aktivity vybraných enzýmov v sére: asparátaminotransferázy (AST), alanínaminotransferázy (ALT) a gama-glutamyltransferázy (GMT). Cieľom štúdie bolo overiť základné charakteristiky priemernej aktivity enzýmových aktivít v základnom súbore 80 pacientov s nádorovým ochorením (n=21), ischemickým ochorením srdca (n=24) a chorobami pečene (n=35). Medzi jednotlivými tromi podsúbormi boli štatisticky významné rozdiely vo veku (ANOVA, $p < 0,001$), pričom najnižší priemerný vek bol zistený u pacientov s chorobami pečene (49,9±9,6 roku), najvyšší priemerný vek vykazoval súbor s ischemickým ochorením srdca (62,2±3,2 roku). Na vekových rozdieloch mali podiel najmä muži (ANOVA, $p < 0,001$). V enzýmových aktivitách sme medzi jednotlivými podsúbormi zistili rozdiel v enzýmovej aktivite ALT u mužov (ANOVA, $p = 0,004$) a AST taktiež u mužov (ANOVA, $p = 0,03$). Naše výsledky naznačujú, že v sledovanom súbore predstavovalo zastúpenie pohlaví významný faktor, ktorý ovplyvňoval základné vekové charakteristiky posudbov, ako aj mieru štatistickej významnosti rozdielov v priemernej enzýmovej aktivite. Naše zistenia podporujú predpoklad, že heterogametické pohlavie je z aspektu metabolických ochorení jedným z rizikových faktorov.

Kľúčové slová: Enzým. Enzýmová aktivita. Alanínaminotransferáza. Asparátaminotransferáza. Gama-glutamyltransferáza

ABSTRACT

Nowadays, enzymes belong to the routine laboratory parameters and are important factors in many diseases. Our study focuses on the importance of laboratory examination of the activity of selected serum enzymes: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and gamma-glutamyl transferase (GMT). The aim of the study was to verify the basic characteristics of average enzyme activities in a population of 80 patients with cancer (n=21), ischemic heart disease (n=24) and liver disease (n=35). There were statistically significant differences in age (ANOVA, $p < 0.001$) among the three subgroups, with the lowest value being found in patients with liver disease (49.9±9.6 years), the highest mean of the age had the subgroup with ischemic heart disease 62.2±3.2 years). In age differences, the main proportion was caused mainly by male (ANOVA, $p < 0.001$). In enzyme activities, we found differences in male ALT enzyme activity (ANOVA, $p = 0.004$) and also in AST activity in males (ANOVA, $p = 0.03$) among the same subgroups. Our results indicate that gender was a significant factor in the observed population, which influenced the basic age characteristics of the subgroup, as well as the degree of statis-

tical significance of the differences in average enzyme activities. Our findings support the assumption that heterogametic sex is one of the risk factors for the metabolic disease aspect.

Key words: Enzyme. Activity of enzymes. Alanine aminotransferase. Aspartate aminotransferase. Gamma-glutamyltransferase

ÚVOD

Enzýmy sú významnou súčasťou každého organizmu. Ide o špecifické biokatalyzátory, ktoré umožňujú, aby chemické reakcie v organizme uskutočňovali za podmienok zlučiteľných so životom.

V laboratórnej diagnostike má stanovenie enzýmovej aktivity aj napriek významným pokrokom stále svoje miesto. Nami vybrané enzýmy asparátaminotransferáza (AST), alanínaminotransferáza (ALT) a gama-glutamyltransferáza (GMT), ktorým sa bližšie venujeme, patria k dôležitým a významným parametrom predovšetkým pri diagnózach spojených s ochoreniami pečene, žlčových ciest a zároveň dochádza k nárastu ich katalytickej aktivity v sére aj pri rôznych ochoreniach spojených s chorobami srdca alebo svalov.

ALT (L-alanín-2-oxoglutarát-aminotransferáza - EC 2.6.1.2.)

ALT patrí medzi aminotransferázy, preto katalyzuje prenos amino skupiny z aminokyseliny alanínu na kyselinu 2-oxoglutarátovú za vzniku kyseliny glutámovej a pyruvátu. Ide o intracelulárny enzým, ktorý sa nachádza hlavne v cytoplazme, ale aj v mitochondriách. Koenzýmom tohto enzýmu je pyridoxál-5-fosfát. Enzým u cicavcov (z pečene potkana) má relatívnu molekulovú hmotnosť M_r 18 300 a pH optimum 8,5 [1]. ALT sa nachádza predovšetkým v pečeni, ale aj v obličkách, kostrovom svalstve, srdci, pľúcach, slezine a aj v pankrease. Jeho aktivita v pečeni je 3000 násobne vyššia ako je v sére. Počas ALT v sére je 47±10 hodín. Na biochemické vyšetrenia sa odoberá krv za štandardných podmienok a materiál, ktorý sa používa je sérum alebo plazma. Stanovenie aktivity ALT môže

ovplyvňovať ikerus, ak je hodnota bilirubínu nad 1000 $\mu\text{mol/l}$. Hemoglobín v koncentrácii 3 g/l pri hemolýze zvyšuje hodnoty aktivity ALT asi o 10 % a ak je koncentrácia triacylglycerolov pri lipemii nad 11,4 mmol/l. Falošne zvýšené výsledky môžu byť aj pri užívaní rôznych drog a liečiv ako sú napríklad opiáty alebo pri užívaní erythromycínu. Pokles, ale aj nárast aktivity môže spôsobiť aj požitie bylenných a prírodných prípravkov. Falošné zníženie sa sleduje aj pri požití kávy a kávových výrobkov. U detí bývajú aktivity ALT zvyčajne vyššie, rovnako je aktivita vyššia aj u mužov ako u žien. K zvýšeniu môže dôjsť po väčšej fyzickej námahe. Hodnoty sa menia aj zo dňa na deň, a to aj o 30 %. U obéznych ľudí, predovšetkým s ťažkou obezitou, je takisto pozorovaná zvýšená aktivita enzýmu, môže ísť o zvýšenie o 40 %.

AST (L-asparát-2-oxoglutarát-aminotransferáza - EC 2.6.1.1.)

AST sa zaradzuje rovnako ako ALT do skupiny aminotransferáz. Katalyzuje prenos amino skupiny z asparátu na kyselinu 2-oxoglutarátovú za vzniku kyseliny glutámovej a oxalacetátu. AST sa sleduje v dvoch izoenzýmoch. Jedným z nich je cytosólová (cAST) a druhá mitochondriálna forma (mAST). Až 80 % z celej AST v pečeni a v iných orgánoch tvorí práve mAST. V sére to u chorých, ale i zdravých ľudí predstavuje iba menej ako 12 % [2]. Práve aktivita cytosólvej formy je v sére prevažujúca [1, 4]. Pyridoxál-5-fosfát je koenzýmom aj u AST. U cicavcov (cytoplazma potkana) má enzým relatívnu molekulovú hmotnosť M_r 44 600 [3]. Aktivita AST sa pozoruje v kostrových svaloch, srdci, mozgu, obličkách, pankrease, pečeni, ale aj v erytrocytoch. V pečeni je jeho aktivita až 7000-krát vyššia ako je v sére. AST má polčas približne 17 ± 5 hodín [4]. Materiál sa odoberá za štandardných podmienok, používa sa plazma alebo sérum. Interferovať výsledky katalytickej aktivity enzýmu môže hemolýza, ktorá zvyšuje aktivitu AST, pretože lokalizácia tohto enzýmu je aj v erytrocytoch. Ovplyníť aktivitu môže aj koncentrácia triacylglycerolov, ktorá je nad 11,4 mmol/l pri lipemii a aj koncentrá-

cia bilirubínu približne nad 1000 $\mu\text{mol/l}$. K zníženým výsledkom môže dôjsť aj po užívaní niektorých liečiv ako napríklad metronidazol. Zníženie spôsobujú aj niektoré prírodné látky a byliny. Vyššie hodnoty sú u detí, rovnako aj muži majú vyššie hodnoty ako ženy. Hlavne u mužov je hodnota AST ovplyvňovaná aj pri fyzickej aktivite, a to až trojnásobne. K takémuto zvýšeniu môže dochádzať aj pri poškodení svalov. Nárast aktivity je pozorovaný aj pri ľuďoch s ťažšou obezitou, a to i o 40 %.

GMT (γ -glutamyltransferáza – EC 2.3.2.2.)

Za prenos gama-glutamylového zvyšku na iný akceptor je zodpovedný enzým GMT. Tento akceptor môže byť napr. aminokyselina alebo iný peptid. GMT sa radí medzi transferázy. Nachádza sa na membráne buniek a rôznych tkanív, ktoré môžu mať sekrečnú alebo absorpčnú funkciu. GMT sa vyskytuje v 11 izoenzýmoch. Je zodpovedný za syntézu glutathionu v bunkách. Aktivita enzýmu je hlavne v pečeni, pankrease, obličkách, ale aj v mozgu, srdci a slezine. Relatívna molekulová hmotnosť M_r ľudského pečeneového enzýmu je 90 000-120 000 a izoenzým z obličiek má $M_r=84\ 000$ [5].

GMT sa v pečeni nachádza v hepatocytoch, žľčových cestách, ale aj pankreatických vývodoch v bunkách žľčovodov. Polčas rozpadu je 7-10 dní [4]. Hemolýza pri stanovení nemusí byť problém, keďže erytrocyty neobsahujú GMT. Medzi faktory, ktoré môžu ovplyvniť výsledky patria niektoré lieky ako sú napr. fenobarbitaly, ale aj zvýšená konzumácia mäsa zodpovedá za nárast hodnôt tohto enzýmu.

Aktivita enzýmu môže byť vyššia u mužov až o 50 %, pretože enzým sa nachádza aj v prostate a seminálnych vačkoch. Vzhľadom na to, že GMT obsahuje aj semenná tekutina, sa tento poznatok využíva aj pri forenznom vyšetrení znásilnení. U novorodencov je aktivita až päťkrát vyššia, pretože aj placenta obsahuje tento enzým. Aktivita je závislá aj od ďalších faktorov. S vekom aktivita stúpa. Rasa tiež podmieňuje aktivitu, u afrických ľudí môže byť až dvojnásobne vyššia. GMT sa nachádza aj v ľudskom mlieku, kde je jeho aktivita 1300-8300 U/l [6]. Referenčné hodnoty enzýmov sú uvedené v tab. 1.

Tabuľka 1 Referenčné intervaly aktivity vybraných enzýmov v sére človeka [7]

Enzým	Enzýmová aktivita ($\mu\text{kat/l}$)				
	6 týždňov	6 týždňov - 1 rok	1 - 15 rokov	15 - 60 rokov	nad 90 rokov
ALT	0,15 - 0,73	0,15 - 0,85	0,25 - 0,60	0,17 - 0,78	0,18 - 0,63
AST	0,38 - 1,21	0,27 - 0,97	0,20 - 0,63	0,16 - 0,72	0,10 - 0,63
GMT	0,37 - 3,0	0,10 - 1,04	0,10 - 0,39	Muži 0,14 - 0,84, ženy 0,14 - 0,68	0,05 - 0,78

Ochorenia a stavy spojené so zmenou aktivity ALT, AST, GMT

Hepatoocelulárne poškodenie

V rámci biochemickej diagnostiky existuje štandardný súbor vyšetrení, ktorý sa označuje ako pečňové testy. Medzi najdôležitejšie ukazovatele hepatocelulárneho poškodenia patria enzýmy ALT a AST. Zvýšenie 3 až 20 násobné je prítomné pri hepatitídach ako aj pri akútnych tak aj pri chronických. Pri akútnej hepatitíde A je enzým ALT prvým markerom, ktorý sa zvyšuje pri tomto ochorení. K jeho nárastu dochádza približne 3 až 4 týždne po infikovaní a hodnoty sa späť do normálneho rozpätia dostávajú po 8 až 12 týždňoch. Keďže pri hepatitíde B je inkubačná doba zväčša dlhšia, enzýmy zostávajú v norme aj po dobu 2-6 mesiacov a k následnému návratu k normálnym hodnotám oboch enzýmov dochádza až po 2-3 mesiacoch. Podobne je to aj pri hepatitíde C. Pre chronickú aktívnu hepatitídu je typický nárast hodnôt enzýmových aktivít aminotransferáz o 5 až 10 násobne oproti norme v závislosti od štádia ochorenia. Nárast hodnôt ALT a AST je mierny pri cholestatických ochoreniach pečene, pečňových cirhózach a pečňových neopláziách. Dôležitý je rovnako aj pomer AST/ALT, ktorý sa označuje ako de Ritisov index, ktorého využitie je hlavne pri alkoholovom poškodení pečene. Za špecifický pri alkoholových poškodeniach pečene sa považuje, ak je vyšší ako 2. De Ritisov index menší ako 1 je charakteristický pre vírusovú hepatitídu, ale ak dochádza k progresii ochorenia a pečňovej cirhóze, nadobúda hodnoty vyššie ako 1. Pomer vyšší ako 1 je aj pri metastázach v pečeni. ALT môže na krátku dobu vzrásť aj pri požití alkoholu. V konečných štádiách mnohých ochorení dochádza k návratu zvýšených hodnôt enzýmov k norme alebo iba mierne zvýšeným hodnotám.

Pri väčšine ochorení postihujúcich pečň je vyššia aktivita ALT ako AST. Výnimku tvorí Reyeov syndróm a alkoholové poškodenia [4].

GMT sa často posudzuje spoločne s ALP, ale GMT je citlivejší ukazovateľ. Pri cholestáze sa zvyšuje GMT priemerne dvanásťnásobne. Zvýšenie 5 a viac násobne je pri ochoreniach žľčových ciest. K miernemu zvýšeniu dochádza pri pečňových ochoreniach, približne dvojnásobné. Možné sú aj prípady, kedy je aktivita GMT pri cholestatických syndrómoch nízka. Mnohé látky, ktoré sú používané

v priemysle, chemikálie a liečivá, ale aj alkohol dokážu indukovať syntézu GMT v hepatocytoch de novo. Často sa teda stanovuje aktivita GMT pri teste chronickej konzumácii alkoholu. Tento test je však limitovaný hlavne nešpecifickosťou a individuálnou variabilitou. Po prerušení konzumácie alkoholu je polčas GMT 26 dní. Pri akútnej intoxikácii dochádza k zvýšeniu až desaťnásobne. Až k päťnásobnému zvýšeniu môže dôjsť pri akútnej vírusovej hepatitíde a chronickej aktívnej hepatitíde. Môže sa používať aj pomer GMT/AST, ktorý ak je nad 6 môže ísť o chronickú alkoholickú hepatitídu, hodnoty 3 až 6 sú pri cirhózach. V prípade, že sa hodnoty enzýmových aktivít pohybujú okolo normy, to v niektorých prípadoch nemusí znamenať vyliečenie pacientov, ale poukazovať na konečné štádia ochorenia pečene a vyčerpanie, resp. rapídny pokles syntézy enzýmov v hepatocytoch [8].

Podľa najnovších štúdií je aj u pacientov s chronickou hepatitídou alebo pacientov s cirhózou ako dôsledkom hepatitídy B, so zvýšenými hodnotami GMT a pomerom GMT/ALT > 1 a zároveň pomerom AST/ALT > 1, možný výskyt primárneho karcinómu pečene aj bez ohľadu na iné parametre (napr. alfa-fetoproteín) [9].

Ochorenia kardiovaskulárneho systému

Medzi biochemické ukazovatele pri poškodeniach srdca patrí aj AST. Jeho aktivita v sére stúpa po 3-8 hodinách od poškodenia srdca a vrchol aktivity dosahuje približne po 24 hodinách. K normálnym hodnotám sa opäť vracia po 3 až 6 dňoch. V minulosti bolo AST považované za dobrý a vhodný ukazovateľ poškodenia srdca, keďže jeho aktivita zostáva v norme pri pľúcnej embólii, ale aj pri angine pectoris, perikarditíde. Neskôr sa však zistilo, že k nárastu aktivity dochádza aj pri ochoreniach pečene alebo poškodeniach svalov. K nárastu hodnôt AST dochádza aj pri zlyhaní srdca, ktoré je spôsobené venostázou pečňových ciev a zhromažďovaním krvi v pečeni. Po resuscitácii a operáciách srdca tiež stúpa AST.

Pri infarkte myokardu vždy dochádza k nárastu hodnôt AST, ale hodnoty ALT nemusia stúpať proporcionálne. Ak teda dôjde k nárastu hodnôt AST, ale ALT zostane v normálnych hodnotách, potvrdzuje to ochorenia srdca [10].

Mnoho štúdií poukazuje na súvislosť nárastu aktivity GMT s výskytom ochorení kardiovaskulárneho systému, vysokého krvného tlaku, arytmií a vyššou kardiovaskulárnou mortalitou. Katalytická

aktivita GMT bola pozorovaná aj v aterosklerotických plakoch a táto aktivita korelovala s celkovou aktivitou tohto enzýmu. Je však nutné, aby boli vykonané ďalšie štúdie, ktoré sa budú venovať práve zvýšenej aktivite GMT pri kardiovaskulárnych ochoreniach, ktoré by mohli určiť či je enzým skutočne vhodným ukazovateľom zvýšeného rizika kardiovaskulárnych ochorení [11].

Ostatné ochorenia

So zmenou aktivity aminotransferáz, predovšetkým AST sa spájajú aj ochorenia kostrových svalov. V začiatkových štádiách svalovej dystrofie dochádza k nárastu hodnôt AST, ale napr. aj pri pomliaždení svalov. Aktivita tohto enzýmu narastá aj pri šoku, otrave oxidu uhoľnatým, po podaní morfínu a pri závislosti od heroínu. Aktivita ALT a AST môže byť znížená v dôsledku nedostatku vitamínu B9, ktorého derivátom je pyridoxálfosfát – koenzým aminotransferáz [1]. V plodovej vode dochádza k zvýšeniu hodnôt AST pri infarktoch placenty [2]. K nárastu aktivity GMT dochádza aj pri obštrukčnej chorobe pľúc, renálnej insuficiencii a diabetes mellitus [4].

Tehotenstvo

Počas fyziologického tehotenstva dochádza k miernemu poklesu ALT, AST aj GMT oproti referenčným hodnotám u zdravých netehotných žien. V prvom trimestri dochádza k zníženiu do 10 %. V druhom trimestri ALT aj AST zostáva znížené do 10 %, ale pri GMT dochádza k zníženiu medzi 11 až 30 %. V treťom trimestri sa pozoruje u AST a ALT pokles do 2 % a u GMT do 10 % [12].

CIEĽ

Cieľmi štúdie bolo overenie miery rozdielov medzi enzýmovými aktivitami v súbore pacientov s nádorovým ochorením (podsubor C), ischemickým ochorením srdca (podsubor I) a chorobami pečene (podsubor K), s prihliadnutím na vekovú štruktúru súboru a zastúpenie oboch pohlaví.

MATERIÁL A METÓDY

Pri *in vitro* kvantitatívnom stanovovaní katalytickej aktivity ALT laboratórium využívalo diagnostickú súpravu COBAS INTEGRA Alanine Aminotransferase systémom COBAS INTEGRA, ktorá umožňuje stanovenie v plazme aj v sére. Diagnostické súpravy použité pre stanovenie AST a GMT boli použité od rovnakého výrobcu.

Súbor pacientov

Základný súbor pacientov tvorilo 80 jedincov, ktorí boli vyšetrení v období mesiacov január až jún 2015 v ambulantných pracoviskách spádového zdravotníckeho zariadenia a boli zahrnutí do štúdie konzekutívnym spôsobom. Pacienti boli rozdelení do troch súborov na základe ich diagnózy. Prvý súbor tvorilo 21 pacientov s nádorovým ochorením (podsubor C). Priemerný vek všetkých pacientov v tomto súbore bol 56,3 rokov, pričom v súbore bolo 12 mužov a 9 žien. Priemerný vek mužov bol 56,9 rokov a priemerný vek žien bol 55,4 rokov. Druhý súbor tvorili pacienti s diagnózou ischemické ochorenie srdca (podsubor I). Celkovo súbor pozostával z 24 pacientov s priemerným vekom 62,2 rokov. Súbor obsahoval z pohľadu zastúpenia pohlaví 17 mužov s priemerným vekom 62,4 rokov a 7 žien s priemerným vekom 61,7 roku. Tretí súbor boli pacienti s chorobami pečene (podsubor K), ktorých bolo spolu 35. Ich priemerný vek bol 49,9 roku. Počet mužov bol 25 a ich priemerný vek predstavoval hodnotu 48,5 rokov. Počet žien bol 10 pričom ich priemerný vek bol 53,2 rokov. Z hľadiska štúdie bolo veľmi dôležité pracovať s vyváženým zastúpením oboch pohlaví. Predbežné štatistické testy našu požiadavku nevyhlúčili (Chí-kvadrátový test, $p=0,4991$, d.f. =2).

Štatistické spracovanie dát

Súbor dát sme spracovali v tabuľkovej databáze editora MS Excel. Pre všetky numerické sledované parametre enzýmovej aktivity sme vypočítali základnú štatistickú charakteristiku, danú celkovým počtom jedincov, aritmetickým priemerom, smerodajnou odchýlkou, mediánom, minimálnou a maximálnou hodnotou. Významnosť štatistických rozdielov v priemernej aktivite sledovaných enzýmov medzi podsúbormi pacientov sme overili s pomocou analýzy rozptylu (ANOVA) a následným Tukeyovým testom. Základné podsúbory spĺňali predpoklad normality distribúcie dát (overené Komogorov-Smirnovým testom, ktorý bol súčasťou algoritmu výpočtov), preto sme ANOVA použili aj v prípade ich rozdelenia na menej početné celky (podľa pohlavia). Ako neparametrickú alternatívu ANOVA pri nesplnení viacerých podmienok jej použitia sme využili neparametrický Kruskal-Wallisov test a následný Dunnov test. V prípade, ak p-hodnota testovacieho kritéria bola menšia ako číselná hodnota 0,05, zamietli sme predpoklad zhody priemerných hodnôt porovnávaných súborov.

VÝSLEDKY

Základné charakteristiky súborov jedincov

V podsúbore C bolo $n=21$ jedincov. Priemerný vek pacientov bol $56,3\pm 9,9$ rokov. V druhom podsúbore I s počtom pacientov 24, priemerný vek nadobudol hodnotu $62,2\pm 3,2$ rokov. Podsúbor K obsahoval 35 pacientov, ich priemerný vek mal hodnotu $49,9\pm 9,6$. Pristúpili sme k štatistickému overeniu pomocou testu ANOVA a na porovnávanie dvojíc sme použili Tukeyov test. Štatisticky významné rozdiely v priemernom veku sme pozorovali medzi podsúbormi pacientov C a K a extrémne významné rozdiely medzi podsúbormi I a K (tabuľka 2).

Podsúbor C tvorilo 12 mužov, ktorých priemerný vek nadobudol hodnotu $56,9\pm 9,8$ rokov. V druhom podsúbore I bolo 17 mužov. Aritmetický priemer so smerodajnou odchýlkou mal hodnotu $62,4\pm 3,3$ rokov. Počet mužov v treťom podsúbore K s pacientami s ochorením pečene bol $n=25$ a ich priemerný vek bol $48,5\pm 8,7$ rokov. Následne sme rozdiely medzi jednotlivými podsúbormi overili pomocou analýzy rozptylu (ANOVA) a Tukeyovým testom dvojíc. Zistili sme, že štatisticky veľmi významné rozdiely v priemernom veku u mužov sú medzi podsúbormi pacientov C a K, štatisticky extrémne významné rozdiely sme sledovali u mužských pacientov medzi podsúbormi I a K (tabuľka 2).

V podsúbore s nádorovými ochoreniami (C) bolo 9 žien. Ich priemerný vek mal hodnotu $55,4\pm 10,5$ rokov. Podsúbor pacientov s ischemickým ochorením srdca s označením I tvorilo 7 žien.

Priemerný vek mal hodnotu $61,7\pm 3,3$ rokov. V poslednom podsúbore K bolo 10 žien s chorobami pečene a ich priemerný vek nadobudol hodnotu $53,2\pm 11,3$ rokov. Po porovnaní rozdielov prostredníctvom analýzy rozptylu ANOVA a následným Tukeyovým testom dvojíc sme u žien nesledovali štatisticky významné rozdiely v priemernom veku medzi podsúbormi (tabuľka 2).

Porovnanie aktivity ALT

Počet pacientov v prvom podsúbore C $n=21$. Aritmetický priemer so smerodajnou odchýlkou zistennej enzýmovej aktivity ALT predstavoval hodnotu $0,547\pm 0,328$ $\mu\text{kat/l}$. U pacientov podsúboru I ($n=24$) sme zistili priemernú enzýmovú aktivitu ALT na úrovni $0,390\pm 0,141$ $\mu\text{kat/l}$. V podsúbore K, ktorý obsahoval 35 pacientov s chorobami pečene, sme zistili priemernú enzýmovú aktivitu ALT na úrovni $0,927\pm 0,858$ $\mu\text{kat/l}$ (tabuľka 3). Z údajov v tabuľke 3 je zrejmé, že na výslednej štatistickej významnosti sa podieľajú predovšetkým rozdiely medzi podsúbormi u mužov ($p=0,004$).

Vzhľadom k tomu, že analýza rozptylu (ANOVA) odhalila štatisticky významné rozdiely medzi podsúbormi ($p=0,003$), pristúpili sme k overeniu významnosti rozdielov medzi priemernými hodnotami jednotlivých dvojíc podsúborov (tabuľka 4). Zistili sme štatisticky významné rozdiely medzi priemernými hodnotami podsúboru I a K (Tukeyov test, $p<0,01$; tabuľka 4). K významnosti celkových rozdielov prispievali predovšetkým muži (tabuľka 3, testovanie rozdielov medzi dvojicami podsúborov udáva tabuľka 4).

Tabuľka 2 Štatistické porovnanie veku medzi jednotlivými podsúbormi

Podsúbor	Popisná štatistika						<i>p</i> (ANOVA)	<i>p</i> (Tukey)			
	<i>n</i>	\bar{x}	<i>sd</i>	x_m	<i>min</i>	<i>max</i>		Podsúbor	C	I	K
Všetci pacienti											
C	21	56,3	9,9	59,0	35	67	p<0,001	C	-	ns	*
I	24	62,2	3,2	62,5	57	69		I	ns	-	***
K	35	49,9	9,6	52,0	31	66		K	*	***	-
Muži											
C	12	56,9	9,8	59,5	35	67	p<0,001	C	-	ns	**
I	17	62,4	3,3	63,0	57	69		I	ns	-	***
K	25	48,5	8,7	48,0	34	66		K	**	***	-
Ženy											
C	9	55,4	10,5	58,0	35	67	p=0,21	C	-	ns	ns
I	7	61,7	3,3	62,0	57	66		I	ns	-	ns
K	10	53,2	11,3	56,0	31	66		K	ns	ns	-

Legenda: C – pacienti s nádorovým ochorením, I – pacienti s ischemickým ochorením, K – pacienti s chorobami pečene, *n* – počet pacientov, \bar{x} – aritmetický priemer, *sd* – smerodajná odchýlka, x_m – medián, *min* – minimálna hodnota, *max* – maximálna hodnota, *p* – hodnota testovacieho kritéria ANOVA s následným Tukeyovým testom dvojíc: ns – štatisticky nevýznamný $p>0,05$, * – štatisticky významný $p<0,05$, *** – štatisticky extrémne významný $p<0,001$

Tabuľka 3 Štatistické porovnanie hodnôt ALT medzi jednotlivými podsúbormi

Podsúbor	<i>n</i>	\bar{x}	<i>sd</i>	x_m	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>p</i>
Všetci pacienti							
C	21	0,547	0,328	0,470	0,110	1,240	0,003
I	24	0,390	0,141	0,375	0,180	0,660	
K	35	0,927	0,858	0,710	0,160	3,540	
Muži							
C	12	0,621	0,329	0,625	0,110	1,240	0,004
I	17	0,376	0,144	0,380	0,180	0,640	
K	25	1,001	0,792	0,730	0,260	3,330	
Ženy							
C	9	0,449	0,318	0,360	0,170	1,110	0,540
I	7	0,423	0,137	0,360	0,290	0,660	
K	10	0,741	1,027	0,330	0,160	3,540	

Legenda: C – pacienti s nádorovým ochorením, I – pacienti s ischemickým ochorením, K – pacienti s chorobami pečene, *n* – počet pacientov, \bar{x} – aritmetický priemer, *sd* – smerodajná odchýlka, x_m – medián, *min* – minimálna hodnota, *max* – maximálna hodnota, *p* – hodnota testovacieho kritéria ANOVA

Tabuľka 4 Štatistické porovnanie rozdielov ALT medzi podsúbormi

Podsúbor	C	I	K
Všetci pacienti			
C	-	ns	ns
I	ns	-	**
K	ns	**	-
Muži			
C	-	ns	ns
I	ns	-	**
K	ns	**	-

Legenda: Tukeyov test dvojíc: ns – štatisticky nevýznamný $p > 0,05$, ** – štatisticky veľmi významný $p < 0,01$

Porovnanie aktivity AST

Pacientov v podsúbore C bolo spolu 21, priemerná hodnota zistenej enzýmovej aktivity AST bola $0,595 \pm 0,541$ $\mu\text{kat/l}$. V podsúbore pacientov I bolo $n=24$ a aritmetický priemer so smerodajnou

odchýlkou nadobudol hodnotu $0,385 \pm 0,108$ $\mu\text{kat/l}$. Podsúbor K tvorilo 35 pacientov priemerná hodnota zistenej enzýmovej aktivity AST bola $0,699 \pm 0,841$ $\mu\text{kat/l}$ (tabuľka 5). Celkové štatistické rozdiely neboli štatisticky významné ($p=0,17$), avšak u mužov boli rozdiely významné na hladine $p=0,03$, čo spôsoboval rozdiel medzi priemernými hodnotami AST u pacientov s ischemickými ochoreniami ($0,372 \pm 0,114$) a ochoreniami pečene ($0,766 \pm 0,946$; tabuľka 5).

Porovnanie aktivity GMT

Výsledky štatistického spracovania výsledkov laboratórneho stanovenia GMT u pacientov sú uvedené v tabuľke č. 6. Ako vyplýva z uvedených výsledkov, medzi jednotlivými podsúbormi neboli zistené štatisticky významné rozdiely, a to ani v prípade zohľadnenia rozdielov medzi pohlaviami.

Tabuľka 2 Štatistické porovnanie nameraných hodnôt AST medzi jednotlivými podsúbormi

Podsúbor	<i>n</i>	\bar{x}	<i>sd</i>	x_m	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>p</i>
Všetci pacienti							
C	21	0,595	0,541	0,360	0,150	2,320	0,170
I	24	0,385	0,108	0,375	0,240	0,670	
K	35	0,699	0,841	0,440	0,210	5,080	
Muži							
C	12	0,713	0,677	0,370	0,240	2,320	0,030
I	17	0,372	0,114	0,340	0,240	0,670	
K	25	0,766	0,946	0,550	0,270	5,080	
Ženy							
C	9	0,437	0,226	0,330	0,150	0,850	0,740
I	7	0,417	0,091	0,430	0,260	0,560	
K	10	0,534	0,490	0,335	0,210	1,820	

Legenda: C – pacienti s nádorovým ochorením, I – pacienti s ischemickým ochorením, K – pacienti s chorobami pečene, *n* – počet pacientov, \bar{x} – aritmetický priemer, *sd* – smerodajná odchýlka, x_m – medián, *min* – minimálna hodnota, *max* – maximálna hodnota, *p* – hodnota testovacieho kritéria Kruskal-Wallisovho testu

Tabuľka 6 Štatistické porovnanie nameraných hodnôt GMT medzi jednotlivými podsúbormi

Podsúbor	<i>n</i>	\bar{x}	<i>sd</i>	x_m	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>p</i>
C	21	0,931	1,011	0,670	0,110	4,030	0,190
I	24	0,810	0,862	0,480	0,150	3,680	
K	35	1,403	1,895	0,880	0,190	10,200	
muži							
C	12	1,338	1,165	0,830	0,430	4,030	0,110
I	17	0,945	0,980	0,580	0,250	3,680	
K	25	1,564	2,128	0,890	0,280	10,200	
ženy							
C	9	0,389	0,329	0,260	0,110	1,120	0,180
I	7	0,483	0,331	0,370	0,150	1,180	
K	10	1,003	1,114	0,370	0,190	3,430	

Legenda: C – pacienti s nádorovým ochorením, I – pacienti s ischemickým ochorením, K – pacienti s chorobami pečene, *n* – počet pacientov, \bar{x} – aritmetický priemer, *sd* – smerodajná odchýlka, x_m – medián, *min* – minimálna hodnota, *max* – maximálna hodnota, *p* – hodnota testovacieho kritéria Kruskal-Wallisovho testu s použitým Dunnovým testom dvojíc

DISKUSIA

V súčasnosti sme svedkami o definovanie širšej palety pohlaví u človeka ako aj akcentu na absolútnu rovnosť pohlaví, ktorá sa prejavuje najmä na úrovni spoločenských a filozofických vedných disciplín. Z pohľadu laboratórných vyšetrovacích metód však musíme zotrvať na konceptuálnej báze, ktorá je jednoznačne definovaná biochemickými, metabolickými, anatomickými a fyziologickými parametrami Homo sapiens. Z tejto premisy sú odvodené aj koncepty a ciele našej štúdie.

Sledovali sme tri podsúbory pacientov, ktoré tvorili pacienti s rôznymi diagnózami. Prvý podsúbor C obsahoval spolu 21 pacientov s nádorovým ochorením. Z celkového počtu pacientov v tomto podsúbore bolo 12 mužov a 9 žien. Podsúbor I tvorili pacienti s ischemickým ochorením srdca, ktorých bolo 24, z toho 17 mužov a 7 žien. Posledný sledovaný podsúbor pacientov s označením K bol zložený z pacientov s chorobami pečene. Počet všetkých pacientov v tomto podsúbore bol $n=35$, pričom ho tvorilo 25 mužov a 10 žien. Použitím kontingenčnej tabuľky a chí-kvadrátového testu sme overili či sú rozdiely v zastúpení pohlaví v sledovaných podsúboroch pacientov štatisticky významné. Zistená hodnota $p=0,4991$ svedčí o paritnom zastúpení oboch pohlaví v sledovaných podsúboroch.

Druhým krokom bolo overenie vekovej štruktúry jednotlivých troch podsúborov. Ako ukazujú naše výsledky, rozdiely v priemernej vekovej štruktúre medzi sledovanými podsúbormi boli štatisticky extrémne významné (ANOVA, $p<0,001$), pričom takmer identické dáta vykazovali súbory pri zastúpení oboch pohlaví ako aj pri zastúpení mužov. Najvyšší priemerný vek sme zistili v skupine pacientov

s ischemickým ochorením ($\bar{x}=62,2$ roku), nasledovali pacienti s nádorovými ochoreniami ($\bar{x}=56,3$ roku), najmladšou skupinou z hľadiska priemerného veku boli pacienti s chorobami pečene ($\bar{x}=49,9$ roka). V prípade mužov boli tieto dáta veľmi podobné, naopak, u žien sme nezistili štatisticky signifikantné rozdiely v priemernom veku medzi jednotlivými tromi súbormi (ANOVA, $p=0,21$). Tieto zistenia nám nebránili v ďalšom štatistickom spracovávaní dát, avšak boli cenným obrazom zloženia a štruktúry vyšetrených súborov, ktoré sa do značnej miery zhoduje s predošlými štúdiami [13]. Uvedená heterogenita môže byť dôsledkom organizácie liečebno-preventívnej starostlivosti v zdravotníckych zariadeniach, ktoré využívajú služby laboratória.

V ďalšom slede sme sa venovali overovaniu rozdielov v katalytických aktivitách sledovaných enzýmov. Zo zistených katalytických aktivít jednotlivých enzýmov sme následne vypočítali aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku, medián, minimálnu a maximálnu hodnotu a štatisticky porovnávali jednotlivé namerané hodnoty medzi podsúbormi. Významnosť štatistických rozdielov medzi súbormi sme porovnávali pomocou analýzy rozptylu (ANOVA) a následným Tukeyovým testom alebo Kruskal-Wallisovým testom a následným Dunnovým testom dvojíc.

Štatisticky významné rozdiely sme zistili pri porovnaní zistených hodnôt enzýmovej aktivity ALT medzi dvojicou podsúborov pozostávajúcich z pacientov s ischemickým ochorením srdca a podsúborom s chorobami pečene ($p<0,01$). Rovnako sme pri porovnávaní pozorovali štatisticky významné rozdiely medzi priemernými hodnotami zistenej enzy-

movej aktivity ALT aj u mužov v podsúboroch pacientov s ischemickým ochorením srdca a chorobami pečene ($p < 0,01$). Pri porovnávaní rozdielov medzi priemernými hodnotami zistených enzýmových aktivít AST u mužov sme medzi podsúborom pozostávajúcím z pacientov s ischemickou chorobou srdca a podsúborom s pacientmi s chorobou pečene pozorovali, že rozdiely sú štatisticky významné ($p < 0,05$).

Všetky tri enzýmy, ktorým sme sa v našej štúdií bližšie venovali, patria do súboru testov, ktorý označujeme ako pečenné testy. Práve enzýmy ALT a AST patria k najvýznamnejším ukazovateľom hepatocelulárneho poškodenia. Pri hepatitídach dochádza k zvýšeniu ich aktivity 3 až 20 násobne oproti norme. Práve pri hepatitídach, či už vírusových alebo toxických, dochádza k najvyššiemu zvýšeniu týchto enzýmov. Oproti aminotransferázam katalytická aktivita enzýmu GMT pri mnohých ochoreniach pečene zostáva v norme alebo dochádza iba k miernym nárastom aktivity. Pri malignitách je zase naopak výraznejší nárast aktivity GMT oproti ALT a AST. V súčasnosti sa upúšťa od stanovovania enzýmovej aktivity AST ako ukazovateľa poškodenia srdca, vzhľadom k nízkej špecificite, keďže k jeho zvyšovaniu dochádza hlavne pri ochoreniach spojených s pečenu a jej poškodením, ale aj pri poškodeniach svalov. Pri angine pectoris, ktorá je jednou z foriem ischemického poškodenia srdca, zostáva enzýmová aktivita AST zväčša v normálnych hodnotách. Pri infarkte myokardu dochádza spravidla k zvýšeniu AST, ale ALT môže v tomto prípade zostávať v norme [9, 14, 15].

Preto je možné, že štatisticky významné rozdiely môžeme pozorovať práve medzi priemernými hodnotami podsúborov pacientov s ischemickým ochorením srdca a ochorením pečene. Zároveň zvýšenie enzýmových aktivít pri rôznych ochoreniach pečene pretrváva dlhšie, čo predstavuje časové rozmedzie od niekoľko týždňov až po niekoľko mesiacov (hlavne pri odlišných typoch hepatitíd) ako zvýšenie katalytickej aktivity enzýmov pri ischemických ochoreniach srdca (pri infarkte myokardu dochádza k návratu k normálnym hodnotám po 3-6 dňoch) [9].

Dôležité je prihliadať aj na fakt, že u enzýmov ALT aj AST dochádza k zmene ich aktivity aj zo dňa na deň aj o 30 %. U ľudí s ťažkou obezitou dochádza k nárastu aktivít aj o 40 %. Zvážiť by sme mali aj skutočnosť, že pacienti mohli byť v čase odberu vzoriek liečení, čo mohlo spôsobiť pokles

enzýmových aktivít až k norme alebo v prípade mnohých liekov aj nárast aktivít [16].

Napokon musíme zdorazniť aj fakt, že v prípade uvedených troch podsúborov sa jednalo o veľmi široko stanovené selekčné kritériá jednotlivých ochorení. Preto nám uvedené podsúbory už len zo svojej podstaty nemohli priniesť viac informácií.

ZÁVER

Vyšetrovanie enzýmovej aktivity patrí k rutinným činnostiam medicínskej laboratórnej diagnostiky. Vzhľadom na multifaktoriálnosť ochorení, u ktorých sa AST, ALT i GMT stanovujú, nie je zmysluplné predpokladať ich jednoznačnú špecificitu v zmysle zvýšenej koncentrácie v súboroch pacientov s daným ochorením. V prípadoch niektorých parametrov výrobcovia diagnostických súprav jednoznačne udávajú rôzne referenčné hodnoty pre mužov i pre ženy, ktoré musí laboratóriu zohľadniť pri validácii výsledkov vyšetrenia, navyiac s dôrazom na overenie vlastností spádovej populácie, v ktorej sa vyšetrenia vykonávajú. Vplyv veku na výsledky vyšetrení je podmienený vekovou skladbou ochorení a čiastočne aj špecializáciou a zameraním zdravotníckeho zariadenia, ktoré poskytuje liečebnopreventívnu starostlivosť.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] BISSWANGER H. *Practical enzymology*. 2nd Edition, Wiley-Blackwell, 2013, 376 s., ISBN 978-3-527-65924-1.
- [2] MEŠKO D. et al. *Vademékum klinickej biochémie/Vademecum of Clinical Biochemistry*. Osveta, 1998, 1647 s., ISBN 8080630054.
- [3] RACEK J. et al. *Základy biochemie*. Galén, 2006, 329 s., ISBN 80-7262-324-9.
- [4] ZIMA T. *Laboratorní diagnostika*. Galén, 2009, 906 s., ISBN 9788072623723.
- [5] SHAW L.M., PETERSEN-ARCHER L., LONDON J.W., et al. Electrophoretic, Kinetic, and Immunoinhibition Properties of γ -Glutamyltransferase from Various Tissues Compared. *Clin Chem*. 1980; 26 (11): 1523-1527.
- [6] HEIL W., KOBERSTEIN R., ZAWTA M. Reference Ranges for Adults and Children: Pre-analytical Considerations, Roche Diagnostics GmbH, 2004, 231 s.
- [7] PRŮŠA R., ČEPOVÁ J., PETRÝLOVÁ K. *Průručka laboratorních vyšetření*. Triton, 2002, 176 s., ISBN 8072542737.

- [8] McCLATCHEY K.D. *Clinical Laboratory Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, 2002, 1693 s., ISBN 9780683307511.
- [9] JIAN-GONG Y., XIAO-FENG H., BING H., et al. Rule of changes in serum GMT levels and GMT/ALT and AST/ALT ratios in primary hepatic carcinoma patients with different AFP levels. *Cancer Biomark*. 2018; 21 (4): 743-746.
- [10] BYRNE C.J. *Laboratory tests: implications for nursing care*. Addison-Wesley Pub. Co., Health Sciences Division, 1986, 756 s., ISBN 0-201-12670-2.
- [11] KAZMIERCZAK S., AZZAZY H.M.E., BROWN S.M. *Diagnostic Enzymology*. De Gruyter; 2nd fully revised and extended edition, 2014, 220 s., ISBN: 9783110207248.
- [12] TURECKÝ L. Klinickobiochemické vyšetrenia a gravidita. *Praktická gynekologia*. 2005; 12 (4): 174–178.
- [13] VAN BEEK J.H.D.A., DE MOOR M.H.M., DE GEUS E.J.C., et al. The Genetic Architecture of Liver Enzyme Levels: GMT, ALT and AST. *Behavior Genetics*. 2013; 43 (4): 329–339.
- [14] EHRMANN J., HŮLEK P. et al. *Hepatologie*. 2. vyd., Grada, 2014, 658 s., ISBN: 859-404-924-027-2.
- [15] McCLATCHEY K.D. *Clinical Laboratory Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, 2002, 1693 s., ISBN 9780683307511.
- [16] MAŠTEROVÁ V., ČURDA M. *Úvod do laboratornej diagnostiky v klinickej biochémií*. Rokus, 2016, 101 s., ISBN 9788089510467.