

L'esplorazione bioumorale del fegato: il bilancio epatico

GIUSEPPE MAGGIORE

Unità di Gastroenterologia ed Epatologia, Dipartimento di Pediatria, Azienda Ospedaliera-Universitaria Pisana

Capire bene gli esami per capire bene il bambino. Nel prossimo numero, l'approccio clinico al bambino con enzimi epatici elevati.

Gli esami di laboratorio che esplorano il fegato sono abitualmente definiti "esami di funzionalità epatica", anche se alcuni di questi e, in particolare, le aminotransferasi non esplorano la funzione dell'organo, ma piuttosto la presenza di una lesione epatocellulare "attiva".

Gli esami, che rientrano nel cosiddetto "bilancio epatico", comprendono la determinazione nel siero:

- di un anione, la *bilirubina*;
- di alcune attività enzimatiche quali le *aminotransferasi*, la *fosfatasi alcalina*, e le γ GT;
- della principale proteina di sintesi epatica, l'*albumina*;
- di alcune proteine dell'emostasi espresse dalla *attività protrombinica*;
- degli *acidi biliari totali*.

Ogni esame esplora un aspetto specifico: l'aumento delle aminotransferasi esprime un danno di tipo *citolitico* di solito a carico dell'epatocita, quello della fosfatasi alcalina e delle γ GT un danno dei colangiociti che formano il rivestimento epiteliale delle vie biliari; gli acidi biliari totali definiscono e illustrano una condizione di *colestasi*, mentre l'albuminemia e l'attività protrombinica esplorano la funzione protidosintetica del fegato.

Preliminare all'esecuzione di ogni esame di laboratorio è comunque la raccolta di un'anamnesi familiare e

BIOCHEMICAL EVALUATION OF LIVER FUNCTION

(*Medico e Bambino* 2009;28:649-653)

Key words

Liver function test, Liver enzymes, Total serum bile acids concentration

Summary

Liver function tests are a simple way to explore liver function and are a helpful tool to the clinician to confirm the clinical suspect of liver disease. Practically, evaluation of liver function includes determination of total and conjugated bilirubin as well as serum enzymes by exploring the presence of hepatocellular or cholangiocellular damage such as aminotransferases, alkaline phosphatase and gamma glutamyl transferase, and serum albumin and protrombin activity which enable to determine synthetic liver activity. Total serum bile acids concentration is useful in evaluating cholestatic liver disease and complete blood cell count may give relevant information on the presence and progression of portal hypertension by evaluating the reduction of leukocyte and platelets count related to hypersplenism.

personale dettagliata e l'esecuzione di un accurato esame clinico. Il bilancio epatico darà infatti solo informazioni complementari ai dati clinici raccolti. *Un bilancio epatico normale non esclude infatti la presenza di una patologia epatobiliare*, anche grave.

Esistono anche esami di laboratorio di "secondo livello" quali le sierologie per i differenti virus epatotropi "maggiori" (virus dell'epatite A, B, C, D [delta] ed E) e "minori" (CMV, EBV, parvovirus B19, herpes virus 6), il dosaggio della ceruloplasmina, dell' α -1-antitripsina, dell' α -fetoproteina, degli autoanticorpi organo- e non organo-specifici: anticorpi anti-nucleo (ANA), anti-muscolo liscio (SMA), an-

ti-mitocondrio (AMA), anti-microsoma di fegato e di rene (LKM), anti-citosol epatico (LC1), anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA), che saranno utili in caso sia necessario un approfondimento diagnostico.

LA BILIRUBINA

La bilirubina deriva dal ricambio del gruppo *eme* dell'emoglobina contenuta nei globuli rossi. La bilirubina non coniugata, trasportata al fegato legata all'albumina, è una molecola insolubile in acqua e quindi non può essere eliminata con la bile. Nell'epatocita, una volta coniugata con acido gli-

curonico, la bilirubina diventa idrosolubile ed è quindi escreta con la bile nell'intestino, dove è trasformata, dalla flora intestinale, in *urobilinogeno*. Questo, a sua volta, è in parte riassorbito ed eliminato con le urine, in parte escreto nelle feci sotto forma di *stercobilinogeno*, responsabile del colore marrone scuro delle feci. La bilirubina non coniugata aumenta caratteristicamente nel neonato, nell'ittero fisiologico e nell'ittero da latte materno, e nel bambino e nell'adulto in caso di eccessiva emolisi, di eritropoiesi inefficace, di riassorbimento di vasti ematomi e più raramente in caso di lesioni muscolari.

Esistono poi condizioni familiari legate a mutazioni della regione promotrice o del gene stesso della glicuronil-transferasi, che sono responsabili di una iperbilirubinemia di grado variabile, con uno spettro clinico che va dalla sindrome di Gilbert alla malattia di Crigler-Najjar.

Nelle malattie parenchimali del fegato l'aumento della bilirubina è misto o prevalente per la quota coniugata. Fa eccezione l'aumento della bilirubina non coniugata che si riscontra nell'insufficienza epatica acuta della malattia di Wilson; in questa condizione infatti coesistono due fenomeni: una iperemolisi indotta dalla liberazione del rame intracellulare e un grave disturbo della funzione degli epatociti legato alla loro massiva necrosi.

Esistono infine rare condizioni di iperbilirubinemia prevalentemente coniugata, non associata a danno epatico, ma legate a errori congeniti del trasporto biliare dell'epatocita, quali la malattia di Dubin-Johnson, in cui il difetto selettivo del trasporto della bilirubina coniugata attraverso la membrana canalicolare dell'epatocita è legato a una "malfunzione" geneticamente determinata di un trasportatore transmembranario, denominato MRP2.

In sostanza, un aumento della bilirubina coniugata può riflettere sia la severità di una colestasi, indipendente dal danno della funzione epatocellulare, sia la gravità di un disturbo funzionale del fegato, come ad esempio in corso di epatite acuta.

LE AMINOTRANSFERASI

L'alanina-aminotransferasi (ALT) o transaminasi glutammico-piruvica (SGPT o TGP) e l'aspartato-aminotransferasi (AST) o transaminasi glutammico-ossalacetica (SGOT o TGO) sono enzimi endocellulari che catalizzano il trasporto di radicali α -aminici da un aminoacido (alanina o acido aspartico) a un chetoacido (acido chetoglutarico) per formare rispettivamente acido piruvico e acido ossalacetico. L'ALT è localizzata principalmente nel fegato e in minor misura nel rene e nel muscolo. Un aumento della sua attività nel siero è quindi suggestivo di una lesione dell'epatocita, sebbene un suo moderato incremento possa essere osservato anche in caso di danno muscolare. L'AST è invece presente in più organi e tessuti, in ordine decrescente: cuore, fegato, muscolo scheletrico, rene, pancreas, polmone e globulo rosso. L'ALT è localizzata quasi esclusivamente nel citosol dell'epatocita, mentre l'AST è localizzata sia nel citosol che nei mitocondri, anche se la quasi totalità della sua attività sierica è di origine citosolica. Le due attività AST sono immunologicamente distinte e quindi misurabili individualmente. Non esistono invece isoenzimi specifici di un determinato organo o tessuto che permettano di identificare la sede di un eventuale aumento.

Nell'adulto l'attività aminotransferasica subisce modeste variazioni giornaliere ed è moderatamente influenzata dal sesso (più elevata nel maschio), dall'attività fisica, da fattori razziali e dalla massa corporea. Entrambi gli enzimi esprimono normalmente nel siero una bassa attività, di solito inferiore a 40 UI/l, e subiscono scarse variazioni con l'età nell'adulto. Nel neonato e nel lattante l'attività delle aminotransferasi è leggermente più elevata, con un 95° centile per l'attività ALT di 60 U/l per i maschi e di 55 U/l per le femmine, per rientrare nel range di normalità per l'adulto a partire dai 18 mesi¹.

In caso di necrosi dell'epatocita o anche di semplice aumento della permeabilità della membrana, le aminotransferasi vengono rilasciate in circolo e la loro attività sierica aumenta; non esiste tuttavia correlazione diretta tra entità

del danno ed entità dell'elevazione delle aminotransferasi.

La prima segnalazione di una relazione tra aumento della AST nel siero ed epatite acuta virale risale a circa 50 anni fa, da parte di De Ritis e coll.² (1955) e (italico orgoglio!) il primo articolo sull'andamento delle aminotransferasi in età pediatrica nella letteratura anglosassone è firmato dal prof. Paolo Tolentino³ (1958). Da allora l'aumento delle aminotransferasi si è sempre più consolidato come l'indice biochimico più fedele di lesione epatocellulare. Se l'innalzamento delle aminotransferasi è indice sensibile di danno dell'epatocita, la sua specificità diagnostica è tuttavia modesta, in quanto aumenti di questi enzimi sono comuni a quasi tutte le condizioni di patologia epatobiliare del bambino e dell'adulto.

Misura dell'attività aminotransferasica

Vi è dibattito sul reale vantaggio di misurare entrambe le attività aminotransferasiche; nel Regno Unito, ad esempio, se ne determina una sola: la AST. Gli intervalli di normalità dell'attività aminotransferasica variano ampiamente da laboratorio a laboratorio (da 18 U/l a più di 60 U/l) a seconda dei metodi utilizzati e per questo è d'uso esprimere questa attività sotto forma di multipli dei valori massimi della norma. Così, ad esempio, un valore di 400 U/l verrà indicato come 10 x N, dove N è il limite superiore della norma, ove in quel laboratorio N corrisponda a 40 U/l.

L'entità dell'aumento delle aminotransferasi è convenzionalmente indicata come *lieve* in caso di aumenti ≤ 2 x N, *moderata* da 2 a 10 x N, e *severa/marcata* per aumenti ≥ 10 x N. L'aumento potrà avere caratteristiche variabili: per esempio, manifestarsi con un brusco incremento per poi rientrare stabilmente nei valori di normalità, oppure caratterizzarsi per una serie di bruschi aumenti intervallati da periodi di attività solo moderatamente elevata oppure ancora caratterizzarsi con un aumento moderato, ma protratto nel tempo.

Per quanto concerne gli aumenti lievi, va ricordato che, in generale, un valore di normalità per un determinato

esame di laboratorio è rappresentato dal valore medio compreso tra le due deviazioni standard, con un limite di "confidenza" del 95%. In queste condizioni un 5% dei valori "normali" potrà situarsi al di fuori dell'intervallo di questi limiti e più precisamente un 2,5% al di sotto e un 2,5% al di sopra del limite superiore della norma. Quindi aumenti di lieve entità potrebbero ancora rientrare nell'ambito di una condizione di normalità.

Esistono condizioni particolari che possono falsare il dosaggio delle attività aminotransferasiche, e in particolare dell'AST quali l'uremia, in cui le concentrazioni sono falsate verso il basso come per effetto di un inibitore sierico, come dimostrato dall'incremento dell'attività AST dopo dialisi⁴ o il fenomeno della *macro-AST* in cui la presenza di immunoglobuline legate all'AST ne ritarda la filtrazione renale determinandone un falso incremento⁵.

Al rapporto tra AST e ALT, noto anche come *indice di De Ritis*, è stato attribuito un valore clinico discriminante in alcune patologie dell'adulto come, ad esempio, nella malattia grassa del fegato dove il rapporto AST/ALT è abitualmente ≤ 1 , a differenza dell'epatite alcolica dove il rapporto AST/ALT è abitualmente > 2 . Nel bambino, anche se condizioni di danno epatico di tipo metabolico o tossico degli epatociti in relazione alla sede preferenziale centrolobulare del danno, sembrano associate a un rapporto AST/ALT > 2 , la scarsa specificità di questa condizione ne sconsiglia una sua utilizzazione a scopo diagnostico.

L'aumento dell'enzima lattato-deidrogenasi (LDH) può testimoniare egualmente, anche se in modo meno specifico, la presenza di un danno epatocellulare, e la sua determinazione nella patologia epatobiliare non aggiunge in genere informazioni diagnostiche supplementari rispetto a quelle fornite dalla determinazione di AST e ALT.

Un aumento marcato delle aminotransferasi è di solito indice di un'estesa lesione degli epatociti, come avviene, ad esempio, in corso di epatite acuta indipendentemente dalla causa; tuttavia, aumenti di simile entità possono essere osservati anche in corso di *rabdomioli- si acuta*, di *ischemia acuta del fegato* o di

ostruzione della via biliare principale. Un aumento marcato delle aminotransferasi si associa abitualmente a segni e/o sintomi di malattia epatobiliare quali l'epatomegalia, l'ittero o l'ascite. È tuttavia possibile osservare incrementi altrettanto significativi anche in pazienti asintomatici e senza evidenza clinica di malattia epatobiliare, come ad esempio in corso di epatite acuta da CMV o nella fase di sieroconversione HBe/anti-HBe in pazienti con infezione cronica da HBV.

LA FOSFATASI ALCALINA

La fosfatasi alcalina origina principalmente da due fonti: fegato e tessuto osseo, ma in minor misura anche da altri tessuti quali intestino, placenta e leucociti. Un suo incremento può essere fisiologico (periodo neonatale, adolescenza, gravidanza), occasionalmente marcato e di breve durata (*iperfosfatemia alcalina benigna*), più raramente protratto ed egualmente benigno (*iperfosfatemia alcalina familiare*). Un aumento patologico della fosfatasi alcalina è legato, in età pediatrica, a una patologia ossea o biliare.

Nel fegato la fosfatasi alcalina ha sede sul versante canalicolare dell'epitelio biliare. Un suo aumento può essere quindi indice di danno biliare come risultato di un incremento della sintesi locale dell'enzima. Per tale ragione esiste una latenza di circa 2 giorni tra la comparsa dell'ostruzione biliare e l'aumento nel siero dell'enzima.

Inoltre, a causa della sua emivita di circa una settimana, ci sarà egualmente una latenza nella sua normalizzazione anche dopo risoluzione dell'ostruzione biliare. Per tutti questi motivi, mentre la determinazione della fosfatasi alcalina è parte del bilancio epatico "dell'adulto", essa è solo occasionalmente impiegata in pediatria dove le si preferisce l'attività γ GT.

LA GAMMA-GLUTAMIL-TRANSPEPTIDASI (γ GT)

È un enzima microsomiale variamente distribuito, in particolare nel rene (tubulo prossimale), pancreas,

ghiandola mammaria, vescicole seminali e villi intestinali. Nel fegato, l'attività γ GT è sostanzialmente debole ed essenzialmente localizzata nei colangiociti; tuttavia, per il peso dell'organo, il fegato rappresenta la principale fonte dell'attività sierica γ GT dell'organismo. La γ GT ha un ruolo chiave nella sintesi del glutatione intracellulare e nel metabolismo di alcuni xenobiotici e di carcinogeni come le aflotossine. La sua sintesi è indotta dall'etanolo, da farmaci e in particolare dagli steroidi. La sua emivita è compresa tra 2 e 4 settimane e la sua attività sierica si normalizza entro 8 settimane dalla sospensione dell'agente induttore. Nel siero l'attività γ GT è comunemente compresa entro le 50 UI/l, anche se i valori normali possono variare in funzione della metodica di laboratorio impiegata. L'attività γ GT è elevata in periodo neonatale con valori fino a 10 volte i valori dell'adulto, in relazione alla presenza di un'attività γ GT fetale e raggiunge i valori dell'adulto entro i primi 5-7 mesi di vita, senza particolari differenze di sesso.

Nell'adulto influenzano positivamente l'attività γ GT determinandone un aumento: l'indice di massa corporea, il consumo di alcol, il tabagismo, l'uso di contraccettivi orali, e negativamente l'attività fisica. L'alcolismo cronico è, nell'uomo, la prima causa di aumento delle γ GT, anche se con un valore predittivo positivo, per un aumento isolato non superiore al 65%.

L'aumento dell'attività γ GT è inoltre un marcatore molto sensibile, ma scarsamente specifico di patologia biliare; è anche di frequente riscontro in corso di alcune malattie metaboliche come l'intolleranza ereditaria al fruttosio, le glicogenosi, nella malattia grassa del fegato, o in corso di tumori primitivi o secondari del fegato.

Nei bambini con colestasi progressiva familiare (PFIC) l'attività γ GT nel siero assume un rilevante interesse clinico perché identifica due distinti fenotipi: quello con valori persistentemente normali di attività γ GT sierica cui appartengono le PFIC di tipo 1 e 2 e quello con valori elevati di γ GT che corrisponde alla PFIC di tipo 3.

Un aumento delle γ GT sieriche deve far ricercare sistematicamente l'u-

so di farmaci con effetto di induzione enzimatica quali i farmaci anticomiziali (barbiturici, carbamazepina e fenilidantoina), gli antidepressivi, gli ormoni steroidei, i cumarinici e alcuni ipnotici. In caso di induzione enzimatica l'aumento è lieve/moderato ($< 4 \times N$), incostante e reversibile alla sospensione del trattamento.

Più raramente un aumento isolato delle γ GT può rappresentare l'unica anomalia di laboratorio riscontrabile in caso di colangite sclerosante, litiasi biliare, malattia di Caroli o malattia di Budd-Chiari.

Cause extraepatiche di aumento delle γ GT sono rare e più tipiche dell'adulto e includono: l'ipertiroidismo, differenti tipi di neoplasie (cerebrali, mammarie, uterine, melanoma maligno), la patologia pancreatica, l'insufficienza renale e la cardiopatia ischemica. Infine, casi familiari di marcato incremento asintomatico delle γ GT sono egualmente descritti.

GLI INDICI DI FUNZIONE EPATICA: ALBUMINA E ATTIVITÀ PROTROMBINICA

L'albumina è la principale proteina circolante ed è responsabile della pressione colloidale-osmotica del plasma. La sua sintesi è esclusivamente epatica. Una sua riduzione $< 3,5$ g/dl deve essere considerata indice di alterata funzione epatocellulare, beninteso in assenza di altre cause eventualmente responsabili quali una sindrome nefrosica, una sindrome da malassorbimento, una malnutrizione o una enteropatia protido-disperdente. Anche in caso di marcata riduzione della sintesi, a causa della sua lunga emivita (circa 20 giorni), gli effetti della riduzione della sua concentrazione plasmatica sono di comparsa relativamente tardiva.

La sintesi dei fattori della coagulazione è un'importante funzione del fegato. L'attività protrombinica misura la velocità di conversione da protrombina a trombina e richiede la presenza dei fattori II, VII e X (la cui sintesi è dipendente dalla vitamina K) e del fattore V (non K-dipendente). In caso

di riduzione dell'attività protrombinica è importante distinguere se questa sia dovuta a un globale difetto di funzione del fegato o a una carenza di vitamina K. Per chiarire questo dubbio esistono due modalità: la ripetizione del test di laboratorio dopo almeno 6 ore dalla somministrazione intramuscolare di una dose-carico (10 mg) di vitamina K₁ oppure il dosaggio del fattore V contemporaneamente a quello dell'attività protrombinica. La sintesi del fattore V infatti, pur concorrendo all'attività protrombinica, non dipende dalla vitamina K; quindi, in caso di riduzione dell'attività protrombinica, una normalità dell'attività del fattore V suggerisce una carenza di vitamina K mentre una sua contemporanea riduzione un difetto globale di sintesi epatocellulare.

ACIDI BILIARI NEL SIERO

È un test utile in corso di malattia colestatica. I valori degli acidi biliari sierici nel neonato sono superiori a quelli dell'adulto ($19,6 \pm 5,2$ mmol/l rispetto a $5,1 \pm 2,9$ mmol/l) (*colestasi fisiologica*). In caso di elevazione delle γ GT, un incremento degli acidi biliari nel siero conferma l'origine colestatica della patologia. In corso di colestasi cronica con γ GT normali, una elevazione degli acidi biliari orienta verso una PFIC mentre, in caso di valori appena elevati o borderline, sarà sospettato un disturbo della sintesi degli acidi biliari⁶.

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

Pur non esplorando direttamente la funzione epatocellulare, questo esame, per le sue importanti informazioni cliniche "indirette", deve essere sempre eseguito in associazione al "bilancio epatico". Ad esempio, una *leuco/piastrinopenia* costituirà un forte argomento di conferma in caso di sospetta ipertensione portale e, in caso di epatite acuta criptogenica, una riduzione del numero delle piastrine dovrà far sospettare una sindrome "epatite-aplasia".

MESSAGGI CHIAVE

□ Gli esami di laboratorio che esplorano il fegato sono abitualmente definiti "esami di funzionalità epatica", anche se alcuni di questi e, in particolare, le aminotransferasi, non esplorano la funzione dell'organo, ma piuttosto la presenza di una lesione epatocellulare "attiva".

□ Ogni esame di laboratorio esplora un aspetto specifico: l'aumento delle aminotransferasi e delle γ GT esprime un danno di tipo citolitico rispettivamente dell'epatocita e del colangiocita, gli acidi biliari totali definiscono la colestasi, mentre albuminemia e attività protrombinica esplorano la funzione sintetica del fegato.

□ Preliminare all'esecuzione di ogni esame di laboratorio è la raccolta di una anamnesi familiare e personale dettagliata e l'esecuzione di un accurato esame clinico. Il bilancio epatico darà infatti solo informazioni complementari ai dati clinici raccolti.

□ Un bilancio epatico normale non esclude la presenza di una patologia epatobiliare, anche grave.

□ Un aumento delle aminotransferasi è lieve se $\leq 2 \times N$, moderato se nell'intervallo da 2 a $10 \times N$, e severo se l'aumento supera $10 \times N$.

□ L'aumento delle aminotransferasi ha caratteristiche variabili: un aumento marcato è indice di un'estesa lesione degli epatociti come, ad esempio, in corso di epatite acuta indipendentemente dalla causa; tuttavia, aumenti simili si osservano anche in corso di raddomiolisi acuta, di ischemia acuta del fegato o di ostruzione della via biliare principale.

□ L'aumento della γ GT è un marcatore sensibile, ma scarsamente specifico di patologia biliare e anche osservabile in corso di alcune malattie metaboliche come l'intolleranza ereditaria al fruttosio, le glicogenosi, nella malattia grassa del fegato.

Indirizzo per corrispondenza:

Giuseppe Maggiore

e-mail: g.maggiore@clp.med.unipi.it

Bibliografia

1. England, K, Thorne C, Pembrey L, Tovo, PA, Newell ML. Age- and Sex-related Reference Ranges of Alanine Aminotransferase Levels in Children: European Paediatric HCV Network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:71-7.
 2. De Ritis F, Coltorti M, Giusti G. An enzymatic test for the diagnosis of viral hepatitis; the transaminasi serum activities. *Clin Chim Acta* 1957;2:70-4.
 3. Tolentino P, Rossi M. Serum transaminase variations in childhood. *Arch Dis Child* 1958; 33:409-11.
 4. Cohen GA, Goffinet JA, Donebedian RK, et al. Observation in decreased serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in azotemic patients. *Ann Inter Med* 1976;84: 275.
 5. Caropreso M, Fortunato G, Lenta S, et al. Prevalence and long-term course of macroaspartate aminotransferase in children. *J Pediatr* 2009;154:744-8.
 6. Maggiore G, Bernard O, Riely CA, Hadchouel M, Lemonnier A, Alagille D. Normal serum gamma-glutamyl-transpeptidase activity identifies groups of infants with idiopathic cholestasis with poor prognosis. *J Pediatr* 1987;111:251-2.
-