

616.357.131:616.36-008-07:356.33

**DIAGNOSTIKA GILBERTOVEJ NEMOCI TESTOM S KYSELINOU NIKOTÍNOVOU
S PODPOROU POČÍTAČOVÉHO PROGRAMU BIOCHEMSCREEN**¹MUDr. Rudolf GAŠKO, ²MUDr. Jozef KROPÁČ, ²MUDr. Peter DAXNER¹Oddelenie klinických laboratórií Vojenskej nemocnice, Košice
(náčelník: MUDr. R. Gaško)²Interné oddelenie Vojenskej nemocnice, Košice
(náčelník: plk. MUDr. V. Kepič)

Gilbertova nemoc (GN, Gilbertov syndróm, chronická intermitentná juvenilná hyperbilirubinémia) je zrejme najčastejšou príčinou nekonjugovanej hyperbilirubinémie

u mladistvých s výskytom 5 - 7 % v populácii (14, 24), s vyšším, zhruba 5-krát častejším výskytom u mladých mužov vo veku 15 - 20 rokov než u žien (21). Spolu

s poznatkom, že v tejto vekovej skupine je u mužov podstatne vyšší výskyt hepatopatií najrozličnejšej etiológie, dochádzame k vysvetleniu z praxe známeho záveru, že vo vojenskom zdravotníctve sa s problematikou diagnostiky GN stretávame veľmi často.

Cieľom tejto práce bolo vyhodnotiť výsledky záťažového testu s kyselinou nikotínovou (KN) s ohľadom na jeho diagnostický význam novým spôsobom, pomocou štatistickej metódy multidimenzionálnej zhlukovej analýzy. Táto metóda umožňuje interpretovať sériu kvantitatívnych znakov získaných (nameraných) na určitej diagnostickej jednotke objasnením a využitím vzájomných korelácií týchto znakov. Podrobnejšie o metóde v práci (8).

Súbory a metodika

V rokoch 1988 - 89 boli v súvislosti s overovaním diagnostických možností testu s KN vyšetrené na internom oddelení VN Košice nasledovné skupiny probandov:

1. Skupina zdravých dobrovoľníkov, 5 mužov priemerného veku $19,4 \pm 0,4$ rokov.

2. Skupina pacientov s GN, $n = 13$, 10 mužov a 3 ženy priemerného veku $23,9 \pm 2,9$ rokov. Diagnóza u nich bola stanovená počas jednej alebo viacerých hospitalizácií podrobným anamnestickým, klinickým, USG (26) a laboratórnym vyšetrením (5, 13), v 1 prípade aj histologickým vyšetrením, ako diagnóza per exclusionem po vylúčení iného hepatálneho a hematologického ochorenia.

3. Skupina pacientov s hepatopatiami, 14 mužov priemerného veku $26 \pm 4,1$ rokov. Do tejto skupiny boli vybraní pacienti približne vekom a pohlavím zodpovedajúci predchádzajúcim skupinám, u ktorých boli zistené hepatopatie rôznej etiológie (etanol, povírusový komplex po hepatitíde A a B, polievkové poškodenie) mierneho stupňa, laboratórne charakterizované opakovanými hraničnými hodnotami ALT, GMT, ALP, normálnymi hodnotami imunoglobulínov G, A, M, cirkulujúcich imunokomplexov, negatívnym HBsAg s hodnotami celkového bilirubínu oscilujúcimi okolo 20-25 $\mu\text{mol/l}$.

U všetkých probandov bol vykonaný záťažový test s KN v prevedení podľa (24): Ráno nalačno odobraná krv na stanovenie celkového a konjugovaného bilirubínu. Hneď po odbere podané p.o. 1 dražé Pevitonu (= 150 mg KN) pri prísom rešpektovaní možných absolútnych aj relatívnych kontraindikácií. Po 3 hodinách hladovania a telesného kľudu opätovne odobraná krv na tie isté vyšetrenia. Celkový a konjugovaný bilirubín stanovovaný setmi firmy Lachema metódou podľa Jendrassika a Grófa.

Výsledky boli spracované deskriptívnou štatistikou. Na jar r. 1991 sme získali na bezplatné skúšanie softwarový produkt BiochemScreen (vlastník fa E. C. C. I. S. Košice, IBM PC XT/AT, HD), v ktorého jednom module je užívateľsky veľmi prijateľne spracovaná metóda zhlukovej analýzy a v ďalšom metóda pravdepodobnostného modelovania Monte Carlo (3). Pomocou týchto modulov boli výsledky retrospektívne opäť spracované a vyhodnotené.

Výsledky

Sumačné nálezy celkového a konjugovaného bilirubínu pred a po záťaži sú v tabuľke 1. Medzi skupinami Gilbert a Hepatopatie nie sú diagnosticky využiteľné rozdiely pred ani po záťaži KN. V skupine zdravých po záťaži ani v jednom prípade nestúpila hodnota celkového bilirubínu nad 30 $\mu\text{mol/l}$, čo v spojení s hladinou nalačno hlboko v norme (pod 20 $\mu\text{mol/l}$) jednoznačne diferencuje túto skupinu od ostatných dvoch.

Tabuľka 1

Zmeny koncentrácie bilirubínu po záťaži kyselinou nikotínovou

Skupina	Zdraví $n = 5$	Gilbert $n = 13$	Hepatopatie $n = 14$
pred záťažou			
bilirubín celk.	$10,2 \pm 1,5$	$31,7 \pm 4,2$	$29,2 \pm 3,9$
bilirubín konj.	$7,0 \pm 1,4$	$15,3 \pm 3,0$	$15,3 \pm 3,1$
po záťaži			
bilirubín celk.	$21,6 \pm 1,4$	$52,5 \pm 8,5$	$51,9 \pm 7,4$
bilirubín konj.	$11,4 \pm 0,9$	$24,9 \pm 3,9$	$25,1 \pm 2,2$

$x \pm s$, jednotky $\mu\text{mol/l}$

Pri hodnotení testu s KN sa za výsledok svedčiaci pre GN pokladá zvýšenie bilirubínu po záťaži o 100 % a vyššie (21, 24), resp o 17 $\mu\text{mol/l}$ a viac (19). Podľa prvého kritéria boli zo skupiny Gilbert správne zaradení 9 pacienti, 4 nesprávne. Zo skupiny Hepatopatie 2 spĺňali kritéria pre zaradenie medzi GN, 12 nespĺňali.

Výsledky spracovania programom BiochemScreen z reálnych dát a metódou Monte Carlo sú v tabuľke 2. Správne boli zaradení všetci pacienti všetkých troch skupín. Modelovaním Monte Carlo bolo odhadnuté, že z hypotetických 100 vzoriek zdravých by všetkých 100 bolo správne zaradených, zo 100 Gilbertov by bolo správne zaradených 94, zo 100 iných Hepatopatií 93. Zaradenie, resp. diagnostika pomocou tohto programu, je výrazne spoľahlivejšia než pri hodnotení použitím rigidných kritérií popísaných vyššie.

Tabuľka 2

Výsledky hodnotenia testu s kyselinou nikotínovou programom BiochemScreen

	Reálne dáta			Monte Carlo		
	počet vzoriek	zaradené správne	nezarad.	počet vzoriek	zaradené správne	nezarad.
Zdraví	5	5	0	100	100	0
Gilbert	13	13	0	100	94	0
Hepatopatie	14	14	0	100	93	0

Diskusia

GN je charakterizovaná ako funkčná porucha transportu organických aniónov pečenej bunkou, hyperbilirubinémia je len jedným, i keď najnápadnejším prejavom

(11). Toho využívajú k diagnostike funkčné záťažové testy. Podľa novších poznatkov táto metabolická odchýlka nemá špecifický korelát zistiteľný svetelnou mikroskopiou, čo je v rozpore s údajmi zo starších monografií (25). Biopické vyšetrenie pečeneového parenchýmu nie je v súčasnosti ku stanoveniu diagnózy GN vyžadované (12, 19, 26), aj keď tento názor nie je všeobecne prijatý (10, 15).

K funkčným záťažovým testom využívaným pri diagnostike GN patria predovšetkým (5, 11, 23) test s KN, hladový test, test s podaním fenobarbitalu. Zriedkavejší je pokus o využitie bromsulfoftaleínového testu (2, 21, 22), aminopyrínový test (2), záťažový test s podaním exogénneho bilirubínu (1) a iné. Hladový test je pokladaný za diagnosticky spoľahlivý (16, 20), avšak sú publikované aj dôkazy jeho nízkej senzitivity (18). Proti jeho využívaniu však stojí predovšetkým zdĺhavosť prevedenia - 48 hodín a viac, a diskomfort pre vyšetřovaného. Test alebo terapeutický pokus s podaním fenobarbitalu je hodnotený ako pomerne spoľahlivý (22). Najčastejšie je však v literatúre sledovaný a hodnotený test s NA. Vo viacerých štúdiách je jeho diferenciálna diagnostická hodnota potvrdená (6, 9, 17, 24), v niektorých iných je spochybňovaná (4, 7, 11).

Podľa našich skúseností vplyvajú na interpretáciu testu s KN predovšetkým nasledovné tri faktory:

1. Spoľahlivosť stanovenia bilirubínu. Stanovenie bilirubínu patrí ku najobtiažnejšie štandardizovateľným rutinným metodikám v klinickej biochemii. Je potrebné vynaložiť sústavnú veľkú pozornosť, aby metodika bola pod kontrolou, presná a správna, v nízkych aj vysokých koncentráciách, u celkového aj u konjugovaného bilirubínu. Vzájomné porovnávanie nameraných hodnôt z rôznych publikovaných prác je aj tak veľmi často nemožné.

2. Technicky precízne vykonanie testu s KN. Po výbere konkrétnej modifikácie prevedenia testu je nutné presne dodržiavať dávku KN, čas odberu krvi, poučiť pacienta o jeho povinnostiach pred vykonaním testu a o vedľajších vaskulárnych účinkoch KN vyvolaných prostaglandínmi - raš v tvári, návaly tepla. Podľa práce (9) je možné podaním indometacínu, inhibítora prostaglandín-syntetázy, pred podaním KN tieto účinky podstatne redukovať, resp. úplne utlmiť bez vplyvu na výsledok testu.

3. Vyhodnotenie testu. Keďže nie sú vzájomne zrovnateľné publikované hodnoty bilirubínu, nie je možné ani automaticky prebrať kritériá testu pre rozhodovanie o prítomnosti, či neprítomnosti GN. Je potrebné vytvoriť si vlastné kritériá. Naše kritériá boli vytvorené metódou viacrozmernej zhlukovej analýzy. Ako vyplýva z porovnania týchto kritérií s kritériami z literatúry, umožnilo využitie zhlukovej analýzy podstatne spresniť a vylepšiť interpretáciu nameraných hodnôt bilirubínu. Bol vypracovaný expertný konzultačný systém odpovedajúci na úzko ohraničenú otázku - ide u konkrétneho pacienta o GN, alebo ide o inú hepatopatiu? Prívlastok konzultačný jednoznačne vyjadruje, že konečné rozhodnutie pri stanovení diagnózy má lekár-hepatológ. Po overení našich nálezov na väčšej skupine pacientov by sme považovali vyhodnotenie záťažového testu s KN zhlukovou analýzou za prínosné.

Súhrn

V skupine 13 pacientov s Gilbertovou nemocou, 14 pacientov s hepatopatiou a 5 zdravých bol vykonaný perorálny záťažový test s kyselinou nikotínovou. Výsledky boli vyhodnotené metódou multidimenzionálnej zhlukovej analýzy počítačovým programom Biochem-Screen. Bol preukázaný prínos tohto vyhodnotenia.

Literatúra

1. ALVISI, V. et al.: Applicabilità diagnostica del modello matematico di regressione non lineare per l'interpretazione del test da carico con bilirubina cristallina nella sindrome di Gilbert. *Minerva Med.*, 76, 1985, č. 43, s. 2037-2042.
2. BAR-MEIR, S. et al.: Bromsulfoftalein clearance and aminopyrine test in patients with Gilbert's syndrome. *Isr. J. Med. Sci.*, 22, 1986, č. 5, s. 376-379.
3. CONNELLY, D. P. - WILLARD, K. E.: Monte Carlo Simulation and the Clinical Laboratory. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 113, 1989, č. 7, s. 750-757.
4. DICKEY, W. - McALEER, J. J. - CALLENDER, M. E.: The nicotinic acid provocation test and unconjugated hyperbilirubinaemia. *Ulster Med. J.*, 60, 1991, č. 1, s. 49-52.
5. EISENBURG, J.: Differentialdiagnose gastrointestinaler Symptome und Krankheitsbilder. Georg Thieme Verlag Stuttgart - New York, 1989, s. 202.
6. FENGLER, J. D. et al.: Das Gilbert-Meulengracht-Syndrom (G.-M.-S.) - Diagnostik und Betreuung in der ärztlichen Praxis. *Z. Arztl. Fortbild.*, 83, 1989, č. 6, s. 283-286.
7. FREZZA, M. et al.: Unconjugated hyperbilirubinaemia in HVB carriers. Discriminant value of nicotinic acid (NA) test. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 47, 1987, č. 1, s. 63-67.
8. GAŠKO, R. - RUSNÁK, I. - MÖRICOVÁ, J.: Diskriminačná analýza a zhluková analýza v hodnotení validity laboratórných markerov alkoholizmu. *Bioch. clin. bohemoslov.*, 1991, v tlači.
9. GENTILE, S. et al.: Improvement of the nicotinic acid test in the diagnosis of Gilbert's syndrome by pretreatment with indomethacin. *Hepatogastroenterology*, 32, 1985, č. 6, s. 267-269.
10. HAMANOVÁ, J. et al.: Juvenilní hyperbilirubinémie. *Prakt. Lék.* 68, 1988, č. 20, s. 752-755.
11. HORÁK, J. et al.: The nicotinic acid test in the evaluation of unconjugated hyperbilirubinemia. *Z. Gastroenterol.*, 27, 1989, č. 10, s. 629-632.
12. CHRZ, R. et al.: K diagnóze benigní hyperbilirubinémie. *Prakt. Lék.* 69, 1989, č. 23, s. 870-872.
13. IRRGANG, B. et al.: Zur Testauswahl fuer ein labordiagnostisches Stufenprogramm zur gezielten Unterstützung der Diagnostik von Lebererkrankungen. *Z. Klin. Med.*, 45, 1990, Heft 25, s. 2223-2227.
14. KOBOS, L. et al.: Longitudinální sledování pacientů s tzv. juvenilní hyperbilirubinemií. *Prakt. Lék.* 68, 1988, č. 20, s. 756-759.
15. MOŠTÁK, J. et al.: Příspěvek k diagnostice benigních hyperbilirubinemií. XXVII. konf. vojenských internistů, České Budějovice, 1980.
16. NEVORAL, J. et al.: Diferenciální diagnostika M. Gilbert. *Čs. Gastroenterol. Výž.*, 40, 1986, č. 1, s. 31-32.
17. OHKUBO, H. - OKUDA, K.: The nicotinic acid test constitutional conjugated hyperbilirubinemia and effects of corticosteroid. *Hepatology*, 4, 1984, č. 6, s. 1206-1208.
18. OLSSON, R. - STIGENDAL, L.: Clinical experience with isolated hyperbilirubinemia. *Scand. J. Gastroenterol.*, 24, 1989, č. 5, s. 617 až 622.
19. PAVELKA, P. - ONDŘÁČEK, P.: Možnosti neinvazivní diagnostiky benigní hyperbilirubinémie u mladé vojenské populace. *Voj. zdrav. Listy*, 59, 1990, č. 5/6, s. 208-210.
20. PETRELLA, V. - BUSCHINI, M. - MASSARA, G.: Il valore del test del digiuno nella diagnostica della sindrome di Gilbert. *Minerva Dietol. Gastroenterol.*, 32, 1986, č. 4, s. 349-353.
21. PREISIG, D. - BIRCHER, J. - PREISIG, R.: Positive Diagnose des Gilbert-Syndroms. *Schweiz. med. Wschr.*, 112, 1982, č. 33, s. 1122-1129.

22. RANDAZZO, G. et al.: Sindrome di Gilbert: considerazioni su alcuni aspetti diagnostici. *Medicina - Firenze*, 9, 1989, č. 4, s. 415-417.
23. REICHEN, J.: Familial unconjugated hyperbilirubinemia syndromes. *Semin. Liver Dis.*, 3, 1983, č. 1, s. 24-35.
24. SPALLEK, E. et al.: Zur rationellen Diagnostik der funktionellen Hyperbilirubinämie und Betreuung von Personen mit Gilbert-Meulengracht-Syndrom (G.M.S.). *Dtsch. Z. Verdau.-Stoffwechs. krankh.*, 47, 1987, s. 171-177.
25. TOMÍK, F.: Farebný atlas biopsie pečene. Martin, Osveta 1978. 161 s.
26. TRUNEČKA, P. et al.: Ultrazvukové vyšetření nadbřišku u osob s Gilbertovým syndromem. *Čas. Lék. čes.*, 128, 1989, č. 43/44, s. 1369-1371.

Klíčové slová: Počítačový program BiochemScreen; Multidimenzionální zhluková analýza; Gilbertova nemoc; Diagnostika.