

Egy civil kezdeményezés hatása: az össz epesav mérés bevezetése

Siska Andrea

Klinikai biokémikus, Laboratóriumi Medicina Intézet, SZTE SZAKK

2021 őszén került az érdeklődés homlokterébe egy laboratóriumi diagnosztikai vizsgálat: az össz epesav meghatározás. A kiváltó ok egy egyéni tragédia volt: egy budapesti ügyvédnő a terhessége késői szakaszában veszítette el a magzatát az úgynevezett terhességi intrahepatikus kolesztázis következtében. A személyes veszteségéről több fórumon is jelent meg vele készült beszélgetés, pl. <https://telex.hu/interju/2021/10/12/terhessegi-kolesztazis-viszketes-epesavszint-meres-magzati-halalozas-ladjanszki-bernadett>. Később létrehozta a Facebook-on a „Terhességi viszketés – vedd komolyan” nevű profilt, ahol az érdeklődők kérdéseire válaszol a mai napig is, illetve közzéteszi a témával kapcsolatos legfrissebb információkat. Innen kaphatnak hírt a kismamák arról is, hogy mely laboratóriumokban válik/vált elérhetővé az össz epesav vizsgálat.

1. Terhességi intrahepatikus kolesztázis (ICP), azaz terhességi epepangás

Az ICP egy reverzibilis, hormonálisan kialakuló epe kiválasztási zavar, amelynek következtében az epesavak (TBA) felhalmozódnak a májban és a véráramban. Az epe egyes alkotóelemei a bőrbe jutva ingerlik az ott található idegvégződéseket, és ez végül viszketéshez vezet. A viszketés leggyakoribb helye a kézfej, tenyér, alkar, illetve a lábfej, talp, vádli területei. Súlyos esetben azonban akár az egész testre is kiterjedhet. A viszketés megnehezítheti az éjszakai pihenést, kialvatlansághoz, fáradtsághoz vezet, csökkenhet az étvágy, hányinger is jelentkezhet. Az ICP-s terhességek esetében jellemzően a második, de inkább a harmadik trimeszterben jelentkezik ez a viszketés. Ismert tény, hogy sok terhesség kísérő tünete a viszketés, de csak nagyon kis részük esetében kiváltó ok az intrahepatikus terhességi kolesztázis.

A viszketés mellett a jobb bordaív alatti diszkomfortérzés, a széklet színének és állagának megváltozása (a széklet világosabb és lágyabb lesz), valamint a vizelet sötétebb színe az, ami még felhívhatja a figyelmet a betegsége.

Bár a magas TBA szint okozta viszketés zavaró, az ICP nem jár más súlyos következménnyel az anyára nézve, ellenben jelentősebb a magzatra gyakorolt hatása. Normál terhesség esetén a méhlepényen átjutó anyai epesavak magzati clearance-ét a transzplacentális gradiensek elősegítik, de kolesztázisos terhesség esetén ezek a gradiensek megfordulnak, ez pedig az epesavak felhalmozódását eredményezi a magzatban és a magzatvízben.

Az ICP esetén a fő szövődmények kockázta megnő. Ezek a kockázatok: a méhen belüli elhalás, a magzatszurokkal festett magzatvíz, a koraszülés (spontán és iatrogén) és az újszülöttkori légzési distressz szindróma, amely úgy tűnik, összefüggésben van az epesavak tüdőbe jutásával.

Az ICP-nek a legfontosabb laboratóriumi jele a szérum össz epesav szint megemelkedése. Tehát nem lenne felesleges plusz vizsgálat, ha a terhességi ellátás során követett laboratóriumi paraméterek közé beemelésre kerülne a TBA meghatározás, figyelembe véve azt a tényt is, hogy a terhességi kolesztázis a későbbi terhességek során az ICP-s várandósok 60-70%-ában megismétlődik.

Az ICP előfordulási gyakorisága Európában 0,5-1,5% között van. Ezt alapul véve az SZTE Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán 16-48 fő ICP-s kismamával lehet éves szinten számolni, ugyanis a klinika honlapján megjelent adatok szerint (2021. október 11-én frissítve): „A fekvőbetegek száma évente átlagosan 7000, a szülések száma közel 3200.”

2. Az ICP kockázata a szérum össz epesav szint függvényében

A terhességi intrahepatikus kolesztázis kockázati besorolásának alapja az össz epesav szint. A vonatkozó külföldi útmutatók (guideline-ok) a szülészeti ellátást az epesav szintektől teszik függővé, értve ez alatt a magzati állapotfelmérés gyakoriságát, a terhesség terminálásának/befejezésének eldöntését, amely a szülészetben minden esetben súlyos dilemmát jelent.

Az enyhe kockázatú csoportba azok a kismamák tartoznak, akiknek a TBA szintje 10-40 $\mu\text{mol/L}$ között van. Náluk a magzatvesztés kockázata nem nagyobb, mint azoknál, akinek nincs ICP-je.

A középsúlyos kockázatú csoportba a 40-99 $\mu\text{mol/L}$ TBA szintű várandósok tartoznak. Náluk megnő a magzatszurok magzatvízbe kerülésének és a spontán koraszülésnek a kockázata a normál terhességekhez képest. Ha nincs egyéb kockázati tényező, akkor náluk javasolható a tervezett szülés a várandósság 38-39. hetében.

A súlyos kockázatú csoportba tartozó kismamáknál a TBA szint a követés során legalább egyszer meghaladta a 100 $\mu\text{mol/L}$ értéket. Az ilyen várandósok esetében a 34-35. hét után megnő a magzati elhalálozás kockázata magzati szívleállás követ-

keztében. A várandósság 35-36. hetében a kezelőorvos javasolhatja a szülésindítást.

Tehát az epesav mérés a meghatározó szülészeti társaságok szerint megkerülhetetlen. Szerintük a közismert májenzimekre (ASAT/GOT, ALAT/GPT) és pusztán csak a tünetekre alapozni a diagnózis felállítását nem elegendő. Emiatt is fontos különbséget tenni a májenzimek és a TBA által szolgáltatott információk között. Az ALAT és az ASAT a sérült májsejtekből felszabaduló enzimek, ezért a hepatocelluláris integritás indikátorai, a TBA viszont a májfunkció mutatója, így koncentrációjának változása korán és érzékenyen jelezheti a májfunkció romlását. A szérumban lévő TBA-teszt általában nem is alkalmas a különböző típusú májbetegségek megkülönböztetésére, csupán korai megerősítést ad a máj-epeműködési elégtelenségről.

3. A terhességi intrahepatikus kolesztázis kezelése

A kezelésnek két fő célja van: az anyai tünetek mérséklése, valamint a magzati kockázatok csökkentése. A legszélesebb körben elterjedt és javasolt kezelés az ursodeoxycholsav (UDCA) adagolása (pl. Ursofalk). Ez a gyógyszer a terhesség alatt anyai és magzati szempontból biztonságos. Ezzel a gyógyszerrel kapcsolatban áll rendelkezésre a legtöbb tapasztalat. A gyógyszert a legtöbb beteg jól tolerálja, de mellékhatásként a várandósok egy részénél enyhe hányingert és szédülést írtak le. A viszketés általában egy-két héten belül mérséklődik, a biokémiai javulás pedig három-négy héten belül látható.

4. Az epesavak szerepe a szervezetben

Az epesavak az epe fő alkotórészei. Formáit tekintve beszélhetünk elsődleges, másodlagos és harmadlagos epesavokról. A máj által kiválasztott összes epesav aminosavval van konjugálva (glicinnel vagy taurinnal). A konjugált epesavak további komplexeket képeznek a nátriummal, így epesókká alakulnak. A klinikai diagnosztikában a TBA teszt az epesav-konjugátumok összes formájának vizsgálatát jelenti (elsődleges, másodlagos és harmadlagos epesavak és konjugátumaik).

A szervezetben betöltött szerepüket tekintve az epesavak elősegítik a zsírok és zsírban oldódó vitaminok emésztését és felszívódását a vékonybélben. Az epesavak koleszterint oldó képessége a legfontosabb mechanizmus a koleszterin szervezetből történő eltávolítására, ezáltal megakadályozza a koleszterin felhalmozódását, és ezzel együtt csökkenti az érlemezés kockázatát. Normális esetben a máj nagyon hatékonyan képes felvenni és eltávolítani az epesavakat a portális keringésből, így a keringő epesavak szintjét minden pillanatban az epesavak bélből történő felszívódása és a májból történő eliminációja közötti egyensúly határozza meg. Ha

azonban az enterohepatikus keringési rendszer károsodik, akkor a vér epesav szintje megemelkedik.

Egészséges egyéneknél a TBA szint éhomi vérvétel esetén $<10 \mu\text{mol/L}$, postprandial (2 órával étkezés után) $<20 \mu\text{mol/L}$. Természetesen a TBA szint nemcsak terhességi intrahepatikus kolesztázis esetén emelkedhet meg, hanem sok egyéb kórképnél is. A teljesség igénye nélkül pl. cholestasis, májcirrhosis, májtumor, akut és krónikus hepatitis, kémiai és környezeti eredetű májkárosodás, cisztás fibrózis, alkoholos májbetegség esetén. A gyermekgyógyászatban az epesavakat szérummarkerként használják veleszületett és szerzett hepatobiliaris rendellenességek esetén. Egyes kórképek viszont csökkent szérum TBA szintekkel járnak, pl. irritábilis bél szindróma, felszívódási zavar, hasmenés, Crohn-betegség. A TBA szint emelkedése viszont nem várható intestinalis malabsorpció és metabolikus májbetegségek esetén, mint pl. az ismert Gilbert-kórnál.

Ezek után felmerülhet a kérdés, hogy ez a vizsgálat miért hiányzott/hiányzik a laboratóriumok vizsgálati palettájáról!

5. Össz epesav meghatározás

A járóbeteg-ellátás tevékenységi kódlistájának alkalmazásáról szóló Szabálykönyvben az „Epesavak meghatározása”, mint tevékenység megnevezés 2012 végéig szerepelt 21710-es kóddal, 448 német pont elszámolással. A Szabálykönyv szerint szakorvos rendelhette el ezt a vizsgálatot. Hogy mi okból, az nem derült ki, de az „Egyes egészségbiztosítási tárgyú miniszteri rendeletek módosításáról szóló 55/2012. (XII. 28.) EMMI rendelet” 2013. január 1-jével kivezette a vizsgálatot, így finanszírozása megszűnt.

A vizsgálat 2020. szeptember 25-től vált újra elérhetővé, éspedig a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében. Első körben a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika fekvő- és járóbetegjei számára tették elérhetővé, 2021. májusától viszont már valamennyi betegellátó egység számára rendelhetővé vált a TBA-meghatározás.

Az epesav meghatározás nemcsak a humán laboratóriumokban ismert: az állatgyógyászatban az állatok májfunkciójának általános diagnosztikai vizsgálatára már régóta folyamatosan használják.

A laboratóriumi diagnosztikában 4 módszer ismert az össz epesav meghatározására. A gáz-folyadék kromatográfia (GLC) és a nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (HPLC) eljárásokat általában nem használják a rutin klinikai laboratóriumokban, mivel ott a már letelepített, beállított, nagy teljesítményű klinikai kémiai automatákon célszerű elvégezni a meghatározást. Ezeken az abszorpciós spektrofo-

tometriás elven működő készülékeken végzett meghatározás esetén két eljárás közül választhat a felhasználó.

A 3. generációs nevezett enzimátikus eljárás során a reakcióban keletkező színes végtermék (formazán) stabil szint ad, amelynek intenzitása egyenesen arányos a mintában lévő epesavak koncentrációjával (az epesav-konjugátumok összes formájával lezajlik a reakció).

Az 5. generációs eljárásnak is nevezett enzimciklusos tesztben két reakció kombinációja valósul meg. Egy koenzim és egy koenzim analógnak az együttes használata a reakcióban jelentős jelerősítést tesz lehetővé, így a teszt sokkal nagyobb detektálási érzékenységet mutat. Ez az analitikai teljesítmény messze meghaladja a hagyományos vizsgálati módszerek képességeit. Ezen túl az 5. generációs vizsgálat kevésbé érzékeny a lipémiára és a hemolízisre, mint általánosan is ismert mérést zavaró tényezőkre.

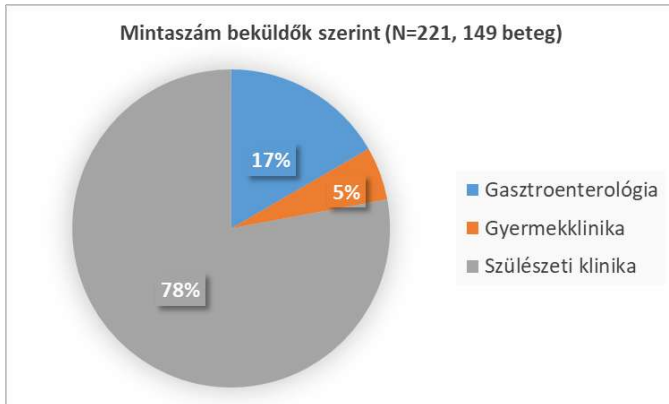
6. Össz epesav mérés az SZTE Laboratóriumi Medicina Intézetében

A szérum TBA vizsgálat 2021. december 14-én került bevezetésre a szegedi Laboratóriumi Medicina Intézetben. Ezen időpont előtt próbaméréseket végeztünk különböző betegpopulációkon (n=48). Magas májenzim és/vagy bilirubin szinteket mutató, ismert gasztroenterológiai betegek, terhes nők és egyéb szempontok szerint kiválasztott betegek mintáit mértük le.

A mérések batch módban történnek, azaz az össz epesav méréseket más típusú tesztekkel időben elkülönítve végezzük egy Roche Cobas 8000 klinikai kémiai analízátor rendszer c502-es automata egységén. A reagens (Total bile acids 21 FS), valamint a hozzá tartozó kalibrátor (TruCal TBA) és kétszintű kontroll (TruLab N és TruLab P) gyártója a DiaSys cég (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Holzheim, Germany).

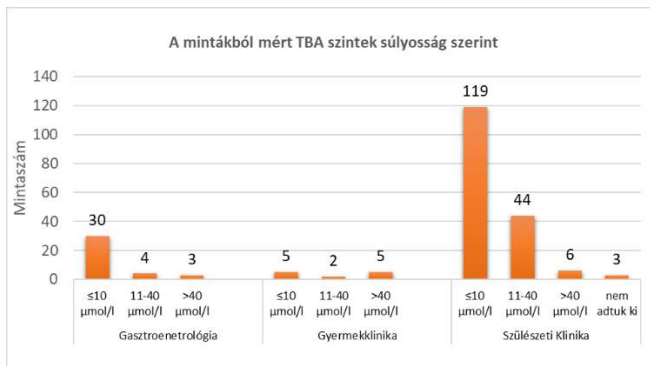
A vizsgálat bevezetése óta rendszeresen adunk le össz epesav eredményeket különböző klinikai kémiai külső jártassági programokban, amelyekben az intézet évek óta rendszeresen részt vesz. A QualiCont Nonprofit Kft. szervezésében évi 6 alkalommal két szinten (azaz két mintából, amelyek jelentősen eltérő koncentrációban tartalmazzák a mérendő analitot), a BioRad Clinical Chemistry (Monthly) Program keretében pedig évi 12 alkalommal egy szinten van lehetőség eredmény leadására. Eddig a QualiCont Kft. megfelelő programjában 6-szor két mintából adtunk le eredményt a 15-43 $\mu\text{mol/L}$ tartományban, a BioRad keretében pedig 13-szor 5-78 $\mu\text{mol/L}$ mérési tartományban. Minden eredményünk az elfogadási tartományon belül volt.

A TBA vizsgálatot 3 beküldő számára tettük elérhetővé. A 2021. december 14. és 2022. október 4. között 149 betegtől 221 darab minta érkezett a laboratóriumba össz epesav vizsgálatra (1. ábra).



1. ábra: Az össz epesav vizsgálatra küldött minták beküldő szerinti eloszlása

Ha a mért eredmények eloszlását tekintjük, akkor mindhárom beküldői csoportban láthatóan a normál tartományba eső eredmények a meghatározóak (2. ábra).



2. ábra: A betegmintákból mért össz epesav szintek beküldő és súlyosság szerinti eloszlása

A vártnak megfelelően főként a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáról érkeztek minták, és a követett betegek aránya is ott volt a legnagyobb (3. ábra).

	Gasztroenterológia	Gyermecklinika	Szülészeti klinika
minta (db)	37	12	172
beteg (fő)	36	7	106
követett (fő)	1	1	29

3. ábra: Az egynél több össz epesav eredménnyel rendelkező betegek beküldő szerinti megoszlása

A Gasztroenterológiáról küldött 36 beteg közül egy beteg esetében két minta érkezett a laboratóriumba, és azokból mindkét esetben a normál tartományban voltak az eredmények. A Gyermecklinika 7 betege közül is csak egy fő esetében kért a beküldő többször össz epesav vizsgálatot. Az ő esetében mind az 5 minta kóros volt: 54-245 $\mu\text{mol/l}$ össz epesav szintekkel. A Szülészeti Klinika 29 követett betege esetén viszont változatos számú mintát küldtek a laboratóriumba: betegenként 2-11 db mintát (4. ábra).



4. ábra: A Szülészeti Klinikáról érkezett követett betegek mintaszámának eloszlása

A legtöbb mintával követett kismamánál a legmagasabb TBA érték 115 $\mu\text{mol/l}$ volt (a 11-ből a 2. mintája). Ezután a beteg Ursofalk-ot kapott. A további minták TBA értéke már $<40 \mu\text{mol/l}$ alatti volt, a szülést követően pedig a TBA érték referencia tartományon belüli lett.

Legmagasabb érték, amit egy a Szülészeti Klinikáról érkezett mintából mértünk: 130 $\mu\text{mol/l}$ volt. Ezt egy ismert kolesztázisos (epepangásos) kismama szérumból kapunk. Az epekő műtétjét (ERCP) követően a beteg TBA szintje 12 $\mu\text{mol/l}$ -re csökkent, majd a további mérések során is 20 $\mu\text{mol/l}$ alatti értékeket mértünk neki (8 mintája volt összesen).

7. Az össz epesav teszttel kapcsolatos tapasztalatok és következtetések

A rendszertelenül érkező minták alacsony száma miatt kontrollmérés csak azokon a napokon történt, amikor minta is érkezett a laboratóriumba. A vizsgálat bevezetése után először batch módban mértünk, és a normál tartományból kieső eredményeket ($>10 \mu\text{mol/l}$) automatikusan megismételtük. Ezt azért tartottuk szükségesnek, mert nem álltak rendelkezésünkre adatok arra vonatkozóan, hogy az általunk használt automatán milyen tapasztalatok vannak a DiaSys TBA reagensével kapcsolatban. A batch mérési módot, amit szintén a tapasztalatok hiánya miatt választottuk, egy nagy forgalmú rutin laboratórium munkamenetébe kellett beillesztenünk. Ezzel megnöveltük az eredménykiadás idejét, illetve esetenként túlórához is vezetett.

Az elvértve észlelt (2 db a 68 mintából, azaz 2,9%), nem megmagyarázható felülmérések miatt 2022. március 30-án a reagens gyártójával történt konzultáció után a mérőkészüléken extra reagenspipetta-mosást állítottunk be. A batch módban való mérés helyett a TBA vizsgálatra érkező mintákat a többi közé illesztve kezdtük lemérni, azaz amikor ilyen minta került a laboratóriumba, akkor lemértük két szinten a kontrollt és utána magát a mintát is. A minták mérését beillesztettük a rutin munkamenetbe.

Sajnálatos módon nem javult, inkább romlott a helyzet, mert kevesebb, mint 2 hónap alatt 47 mintából 7 esetben tapasztaltunk random felülmérést (14,9%).

Az újabb konzultációt követően 2022. május 20-tól extra küvetamosást vezettünk be, és továbbra sem tértünk vissza a batch mérési módhoz. Az ezutáni időszakban 12 minta esetén tapasztaltunk véletlenszerű felülmérést 80 minta közül (15%). Tehát az extra mosások, amelyek egy lehetséges átszennyezés esetén hasznosak, nem vezettek eredményre. A fenti tapasztalatok birtokában 2022. szeptember 22-én visszatértünk a batch módban történő méréshez, megtartva a beállított extra mosásokat.

Azóta 94 darab minta érkezett a laboratóriumba és egyik esetben se tapasztaltunk random felülmérést (0%). A mai napig megtartottuk azt a beállítást, miszerint a kóros eredményeket automatikusan megismétli az analizátor.

A kétszintű kontrollmérés esetén is tapasztaltunk váratlan kiugró értékeket a batch módban történő méréshez való visszatérés előtt, ami arra is utalt, hogy nemcsak a betegminták mérését, hanem magát a kontrollmérést is véletlenszerűen befolyásolta egy ismeretlen, azóta sem felderített zavaró tényező.

Azt meg kell jegyeznünk, hogy a random jelentkező felülmérések ellenére sem adtunk ki rossz eredményt a 2022. szeptember 22. előtti időszakban sem, mert a mintákat ilyen esetben a nap végén újra elővettük lemérésre, és ekkor többszörösen is megismételtük a mérést.

Az általunk használt készüléket megbízható, stabil, az átszennyezési lehetőségek ellen kiváló mosási eljárásokkal rendelkező berendezésnek ismertük meg a korábbi évek tapasztalata alapján. De emellett meg kellett tapasztalnunk azt is, hogy egy másik cég reagensével már nem felhőtlen a rendszer viszonya. Olyan jelenséget figyelhettünk meg, amit nem tudtunk volna felszámolni, ha megmaradunk a nagy forgalmú laboratóriumokban bevált és elfogadott, a gyors eredményközlést biztosító munkaszervezésnél.

A ritkán és elszórtan érkező, kisszámú minták mellett a most beállított munkamennettel (batch módban való mérés, és a kóros eredmények automatikus megismétlése) a reagens kihasználtság jóval alatta marad a szokásosan elvártaknak, jó, ha elérjük a 25%-ot.

A 2022. szeptember 22. utáni tapasztalatok birtokában ez a gyászosan alacsony kihasználtság javítható lesz, ha a reagens saját teljesítőképességének megfelelő ismétlési határt állítjuk be, és nem ismétlünk meg minden 10 $\mu\text{mol/l}$ feletti eredményt automatikusan. Ezzel a módosítással még megvárjuk azt, hogy legalább két különböző LOT számú reagenst elhasználva tapasztaljuk meg, hogy nincsenek már random felülmérések a rendszerben.

Az eredménykiadás idejének javítására megoldás lehetne, ha a TBA tesztet egy különálló, a rutin munkafolyamatban nem használt klinikai kémiai automatán mérnénk, de az egy készülék egy teszt megoldásokat mindig a kényszer, soha nem a gazdaságosság jellemzi.

8. Az össz epesav meghatározás jövője a laboratóriumunkban

Az előző szakaszban leírt tapasztalatok arra szolgáltak, hogy megismerjük a készülékünk és a reagens együttes teljesítményét, a használatuk buktatóit. Minden nehézség ellenére egy pillanatra sem merült fel az, hogy az össz epesav méréstől

visszalépünk, és levegyük a vizsgálati palettáról! A bevezetést követő időszakban kialakult egy igény a kismamákban és az orvosaikban is a teszt iránt, amit nem lehet figyelmen kívül hagyni. A szakmánk szépségéhez pedig hozzátartozik az ilyen változások elősegítése, a problémák felderítése és megoldása.

Mivel más reagensgyártó cég termékéről is megtudtuk, hogy random felülmérés történhet a használatuk során, arra lehet következtetni, hogy sokkal általánosabb a jelenség, mint elsőre gondoltuk azt, de az ilyen felismerések egymás közötti megosztását mindig megnehezíti az a szemérmesség, amivel a problémákat kezeljük.

9. Irodalom

Keith D Lindor, Richard H Lee (2022): Intrahepatic cholestasis of pregnancy, https://www.uptodate.com/contents/intrahepaticcholestasisofpregnancy?search=intrahepatic%20cholestasis%20of%20pregnancy&source=search_result&selectedTitle=1~59&usage_type=default&display_rank=1#H417223400

Caroline Ovadia et al. (2019): Association of adverse perinatal outcomes of intrahepatic cholestasis of pregnancy with biochemical markers: results of aggregate and individual patient data meta-analyses. www.thelancet.com, Vol. 393 pp.: 899-909