

Diskriminanzanalytische Untersuchung der diagnostischen Wertigkeit von Monoamino Oxidase, N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, Fibronectin und β 2-Mikroglobulin für Leberfibrose und Leberzirrhose

P. Roebruck¹ und A. M. Gressner²

¹ Abteilung für Medizinische Statistik und Dokumentation der Med. Fakultät, RWTH Aachen

² Abteilung für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Klinisch-Chemisches Zentrallaboratorium der Med. Fakultät, RWTH, Aachen

Zusammenfassung:

In Fortführung früherer Untersuchungen zur klinisch-chemischen Diagnostik fibroproliferativer Lebererkrankungen wird mit Hilfe eines multivariaten diskriminanzanalytischen Verfahrens die Möglichkeit geprüft, Leberfibrosen und Leberzirrhosen auf der Basis der gemeinsamen Bestimmung der Aktivitäten von Monoamino Oxidase (EC 1.4.3.4) und N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (EC 3.2.1.30) im Serum sowie der Konzentrationen von Fibronectin im Plasma und β 2-Mikroglobulin im Serum zu diagnostizieren. Als Referenzkollektive werden einerseits offenbar (klinisch und biochemisch) gesunde Probanden, andererseits Patienten mit diversen Nicht-Leber- und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen betrachtet. Die besten Trennungen von Zirrhosen und Fibrosen von den jeweiligen Referenzkollektiven werden bereits mit nur 2 Parametern erreicht, und zwar mit N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase und β 2-Mikroglobulin für die Abgrenzung gegenüber gesunden Personen (Sensitivität 0,74; Spezifität 0,89) und mit Monoamino Oxidase und Fibronectin für die Abgrenzung gegenüber dem genannten Mischkollektiv (Sensitivität 0,58; Spezifität 0,76). Bei alleiniger Betrachtung der Leberzirrhosen (ohne Fibrosen) gegenüber dem Mischkollektiv verbessert sich die Sensitivität auf 0,67 (Spezifität 0,80). Für die jeweils günstigsten Parameterkombinationen sind die prävalenzbezogenen Vorhersagewerte angegeben.

Schlüsselwörter:

Leberfibrose – Diagnostik – Vorhersagewerte – Diskriminanzanalyse – Fibronectin – β 2-Mikroglobulin – Monoamino Oxidase – N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase

Summary:

Extending previous studies on clinical chemical diagnosis of fibroproliferative liver disorders the possibility was checked by application of a multivariate discriminant analytic procedure to diagnose liver cirrhosis and fibrosis by combined determinations of the activities in serum of monoamino oxidase (EC 1.4.3.4) and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (EC 3.2.1.30) and of the concentrations of fibronectin in plasma and β 2-microglobulin in serum. Reference populations were apparently (clinically and biochemically) healthy persons and patients suffering from various non-liver and non-fibrotic liver diseases, respectively. Optimum discrimination of liver fibrosis and liver cirrhosis from other populations was reached by the combination of two parameters, i.e. of N-acetyl- β -D-glucosaminidase and β 2-microglobulin with respect to healthy persons (sensitivity 0.74; specificity 0.89) and of monoamine oxidase and fibronectin with respect to patients afflicted with various non-liver and non-fibrotic liver diseases (sensitivity 0.58; specificity 0.76). For liver cirrhosis alone (without liver fibrosis) the sensitivity is improved to 0.67 (specificity 0.80) with respect to the latter reference population. For optimum combinations of parameters the predictive values as function of disease prevalence are given.

Keywords:

liver fibrosis – diagnosis – predictive values – discriminant analysis – fibronectin – β 2-microglobulin – monoamine oxidase – N-acetyl- β -D-glucosaminidase

Einleitung

Die Leber ist ein Zellverband, in dem das Bindegewebe unter physiologischen Bedingungen auf einen Extrazellulärraum von weit weniger als 1% des gesamten Lebervolumens beschränkt ist und nur $\frac{1}{100}$ des Leberfeuchtgewichtes ausmacht. Die Hauptkomponenten des Leberbindegewebes sind

1. Kollagen, welches mit einer Konzentration von ca. 7 mg/g Feuchtgewicht in mindestens 3 genetisch, immunologisch und lokalisatorisch unterschiedlichen Typen (I, III, IV) vorkommt,
2. strukturelle Glykoproteine, deren hochmolekulare Hauptkomponenten Laminin und Fibronectin kollagen-assoziierte Bestandteile der Basalmembranen von Gefäßen und Nervenfasern sind,
3. Proteo- bzw. Glykosaminoglykane, die – mit Ausnahme der Hyaluronsäure – eine heterogene Gruppe von meistens sulfatierten, daher stark anionischen Protein-Polysaccharidmolekülen darstellen.

Durch langzeitige Schädigungen des Leberparenchyms, am häufigsten im Rahmen chronisch-aktiver Hepatitis und alkohol-toxischer Leberzellnekrosen, kommt es zu einer erheblichen Konzentrationszunahme des interzellulären Bindegewebes (= Fibrose), die in Kombination mit einer Umstrukturierung der Läppchenarchitektur (Ausbildung sogen. Pseudolobuli) ein wesentliches morphologisches Kriterium der Leberzirrhose darstellt (1–5). Lebensbedrohende Komplikationen der Leberzirrhose wie intraparenchymale Behinderung („Block“) der Hämozirkulation mit Ausbildung einer portalen Hypertension und (blutender) Ösophagusvarizen sind auf die exzessive Bindegewebsvermehrung zurückzuführen, deren frühzeitige Erkennung und empfindliche Verlaufskontrolle somit aus diagnostischen, therapeutischen und prognostischen Gründen dringlich ist.

Ein auf der Kenntnis zellulärer und molekularer Pathomechanismen basierender Einsatz klinisch-chemischer Parameter zur Erkennung von Ausmaß und Aktivität (Progredienz) der Fibrose ist gegenwärtig nahezu unmöglich, da wesentliche Züge der Pathobiochemie dieser häufigen Erkrankung unklar sind (4, 5). Die meisten der bisher eingesetzten Kenngrößen des Kollagenstoffwechsels (z. B. Monoaminooxidase), des Proteoglykanmetabolismus (z. B. N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase) und des strukturellen Glykoproteinstoffwechsels (z. B. Fibronectin) und anderer Parameter (z. B. β 2-Mikroglobulin) haben somit eher eine empirische als eine pathobiochemisch orientierte Grundlage. Merkmale der meisten klinisch-chemischen Parameter sind bisher leider ihre mangelhafte Krankheitsprozeß-(Fibrose-) und organ-(Leber-)bezogene Spezifität sowie eine oft nicht befriedigende Sensitivität und methodische Praktikabilität. Untersuchungen zur Ermittlung der Kriterien (6) der diagnostischen Validität von Monoaminooxidase (7) und N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (8) im Serum wiesen für die Monoaminooxidase (MAO) eine relativ hohe Spezifität, für die N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAG) eine befriedigende Sensitivität nach, doch limitieren geringe Sensitivität der MAO und Spezifität der NAG den Einsatz beider Enzymaktivitäten als „Fibroseparameter“ erheblich. Durch kombinierte Anwendungen von MAO und NAG ließ sich eine deutliche Verbesserung des Vorhersagewertes durch teilweise wechselseitige Kompensation ihrer

beschränkten Spezifität bzw. Sensitivität erreichen (9). Frühere Untersuchungen deuteten auf zusätzlich gute Trennungsmöglichkeiten fibroproliferativer Lebererkrankungen (Fibrose, Zirrhose) gegenüber einem Referenzkollektiv gesunder Probanden durch Bestimmung von Fibronectin im Plasma und β 2-Mikroglobulin im Serum hin, die bei fibrotisch/zirrhösen Patienten signifikant erhöht gefunden wurden (10). Dort standen für „Normalpersonen“ jedoch nur die univariaten 2s-Bereiche zur Verfügung. Zur Abschätzung der durch die gemeinsame Betrachtung mehrerer Parameter gegebenen Diagnosemöglichkeiten wurden in Kollektiven gesunder Probanden, leberzirrhotisch/fibrotischer Patienten, nicht-leberfibrotischer Patienten und Personen mit verschiedenen Nicht-Lebererkrankungen MAO, NAG, Fibronectin und β 2-Mikroglobulin bestimmt und diskriminanzanalytisch ausgewertet.

Material und Methoden

Probandenkollektive

Fibronectin im Plasma sowie β 2-Mikroglobulin, MAO und NAG im Serum wurden bestimmt bei 45 klinisch offensichtlich gesunden, vorwiegend männlichen Personen, bei 44 Patienten mit histologisch erwiesener Leberfibrose (28 mit beginnender, 16 mit ausgedehnter Fibrose ohne Umbau), 39 Personen mit ebenfalls histologisch verifizierter Leberzirrhose sowie bei 65 Patienten mit diversen Nicht-Lebererkrankungen [maligne Tumoren (n = 9), neuromuskuläre (3), dermatologische (8), gastrointestinale (4), kardiovaskuläre (7), renale (3), chirurgische (2), verschiedene (13) Erkrankungen] und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen, nämlich chronisch persistierende und aktive Hepatitis, destruierende Cholangitis, Cholecystitis (16).

Venöses Blut wurde im morgendlichen Nüchternzustand abgenommen. Zur Bestimmung von Fibronectin wurde EDTA-Plasma, für die der anderen Parameter Serum gewonnen. Die Proben wurden entweder umgehend analysiert oder zunächst bei -20°C maximal 7 Tage gelagert.

Aktivitätsbestimmung der Monoaminooxidase (EC 1.4.3.4) im Serum

Die Aktivität der Monoaminooxidase wurde im Serum nach der kolorimetrischen Methode von Ono et al. (11) in der von uns beschriebenen Modifikation (12) bestimmt. 0,5 ml Serum wurde für 1 h bei 37°C mit 1,0 ml 1-[[4-Aminomethylphenyl]azo]-2-naphthol \cdot HCl (0,5 mmol/l) (Wako, Osaka, Japan) und einem gleichen Volumen 0,1 mol/l Tris \cdot HCl-Puffer, pH 7,2 inkubiert. Die Reaktion wurde terminiert durch Zugabe von 0,1 ml Perchlorsäure. Das während der Reaktion gebildete 1-[[4-Formylphenyl]azo]-2-naphthol wurde mit Cyclohexan extrahiert und photometrisch bei 500 nm bestimmt (12). Die Bestimmung der Präzision mit Validat A (Fa. Gödecke) und Ortho Normal (Ortho Diagnostics) als Kontrollseren ergab einen mittleren Variationskoeffizienten von Tag zu Tag von 13%.

Aktivitätsbestimmung der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (EC 3.2.1.30) im Serum

Die Aktivität der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase wurde im Serum nach der leicht modifizierten (8) Methode von Findlay

et al. (13) unter Verwendung von p-Nitrophenyl-N-Actyl- β -Glucosaminid (Sigma Chemical Comp., München) als Substrat bestimmt. 0,05 ml Serum wurde für 1 h bei 37 °C und pH 4,3 in einem Gesamtvolumen von 2,05 ml mit 10 μ mol Substrat inkubiert. Nach Termination der Reaktion durch Zugabe eines gleichen Volumens 0,4 mol/l Glycin-NaOH Puffers (pH 10,5) und Zentrifugation (15 min, 1000 g) erfolgte im Überstand die photometrische Bestimmung von p-Nitrophenol bei 405 nm (8). Für die Präzision von Tag zu Tag ergab sich mit Valide A und Ortho Normal ein mittlerer Variationskoeffizient von 15%.

Bestimmung der Fibronektinkonzentration im Plasma

Fibronektin wurde im EDTA-Plasma mit einer früher im Detail beschriebenen lasernephelometrischen Methode bestimmt (14). Die Messungen wurden mit dem Behring Helium-Neon-Lasernephelometer durchgeführt. Monospezifisches Antiserum gegen humanes Fibronektin und Protein-Standardplasma zur Erstellung der Referenzkurve wurden von den Behring-Werken AG, Marburg bezogen. Der Variationskoeffizient der Bestimmung von Tag zu Tag betrug 3,5%.

Bestimmung der Konzentration von β 2-Mikroglobulin im Serum

Die Konzentration von β 2-Mikroglobulin im Serum wurde mit Hilfe eines Festphasen-Radioimmunoassays (Phadebas β 2-micro-Test, Pharmacia GmbH, Freiburg) ermittelt. Der Variationskoeffizient von Tag zu Tag betrug 9%.

Statistische Analyse

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, die diagnostischen Möglichkeiten der gemeinsamen Bestimmung von MAO, NAG, Fibronektin und β 2-Mikroglobulin zu überprüfen.

fen. Dazu ist zunächst festzulegen, in welcher Weise diese Parameter zu einem Entscheidungskriterium zusammengefaßt werden sollen. Wegen der einfachen Anwendbarkeit und Interpretierbarkeit haben wir uns für eine Linearkombination der Parameter entschieden. Das heißt, als Kriterium zur Trennung zweier Gruppen (z. B. Gesunde-Fibrose/Zirrhose) soll eine Kennzahl der folgenden Art verwendet werden:

$$A \times \text{MAO} + B \times \text{NAG} + C \times \text{Fibronektin} + D \times \beta 2\text{-Mikroglobulin} + E.$$

Probanden mit einer negativen Kennzahl werden dann der einen Gruppe (z. B. Gesunde) zugeordnet, Probanden mit einer positiven Zahl der anderen (z. B. Fibrosen/Zirrhosen).

Die Multiplikatoren A, B, C, D für die klinisch-chemischen Parameter und die Konstante E in dieser Kennzahl müssen nun so bestimmt werden, daß sich möglichst viele richtige Zuordnungen ergeben. Dies geschieht auf der Basis von Stichproben aus den interessierenden Gruppen mit Hilfe der sogenannten „Linearen Diskriminanzanalyse“. — Auf das Rechenverfahren selbst soll hier nicht eingegangen werden, zumal es „von Hand“ ohnehin kaum zu bewältigen ist. — Für den Praktiker ist es natürlich auch wichtig zu wissen, ob für die bestmögliche Diagnose alle angeführten Parameter benötigt werden, oder ob man mit einem Teil ähnlich gute Ergebnisse erzielen kann. Wir haben die Diskriminanzanalysen daher auch für die einzelnen biochemischen Parameter und für jede mögliche Kombination von zweien oder dreien durchgeführt. Für Einzelheiten siehe (15).

Insbesondere bei zwei Parametern läßt sich das Resultat der Diskriminanzanalyse leicht veranschaulichen. Abb. 1 zum Beispiel zeigt die Meßwertpaare für NAG und β 2-Mikroglobulin für die Stichproben aus Normalpersonen und Fibrosen und Zirrhosen. Das mit der Diskriminanzanalyse bestimmte Entscheidungskriterium hat hier die Gestalt

$$0,07 \times \text{NAG} + 0,98 \times \beta 2\text{-Mikroglobulin} - 4,45.$$

Tab. 1: Zusammenstellung von Mittelwerten, empirischen Standardabweichungen und Korrelationskoeffizienten von Monoamino Oxidase (MAO), N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAG), Fibronektin und β 2-Mikroglobulin in den untersuchten 4 Probandenkollektiven

| | Parameter | Mittelwert (\bar{x}) | empirische Standard- abweichung (s) | empirische Kor- relationskoeffizienten (r) mit | | |
|--|--------------------------------|-----------------------------|--|---|-------|-------------|
| | | | | MAO | NAG | Fibronektin |
| Normalpersonen | MAO (U/l) | 389,0 | 77,3 | | | |
| | NAG (U/l) | 24,0 | 6,3 | -0,00 | | |
| | Fibronektin (mg/l) | 337,3 | 78,1 | -0,07 | 0,23 | |
| | β 2-Mikroglobulin (mg/l) | 1,77 | 0,70 | 0,13 | 0,03 | -0,06 |
| Nicht-Leber- und nicht- fibrotische Lebererkrankungen | MAO (U/l) | 363,1 | 156,9 | | | |
| | NAG (U/l) | 31,4 | 10,7 | 0,07 | | |
| | Fibronektin (mg/l) | 371,8 | 105,4 | 0,02 | -0,05 | |
| | β 2-Mikroglobulin (mg/l) | 4,5 | 5,49 | -0,27 | -0,13 | -0,08 |
| Leberfibrose | MAO (U/l) | 463,7 | 168,7 | | | |
| | NAG (U/l) | 34,5 | 16,6 | -0,03 | | |
| | Fibronektin (mg/l) | 366,4 | 72,2 | 0,12 | 0,18 | |
| | β 2-Mikroglobulin (mg/l) | 2,79 | 0,98 | 0,07 | 0,26 | -0,06 |
| Leberzirrhose | MAO (U/l) | 666,7 | 306,1 | | | |
| | NAG (U/l) | 38,6 | 11,4 | 0,13 | | |
| | Fibronektin (mg/l) | 349,7 | 79,0 | 0,09 | 0,01 | |
| | β 2-Mikroglobulin (mg/l) | 2,97 | 1,28 | -0,03 | 0,02 | 0,20 |

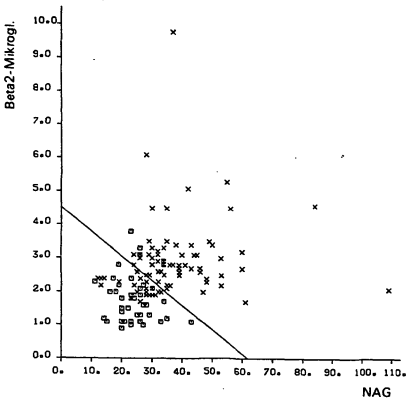


Abb. 1: β_2 -Mikroglobulin (mg/l) und NAG-Werte (U/l) für Zirrhose- und Fibrosepatienten (x) und für Normalpersonen (□). Die Gleichung der Trennfunktion (Trenngerade) ist $0,984 \cdot \beta_2\text{-Mikroglobulin} + 0,072 \text{ NAG} - 4,449 = 0$

Für die Wertepaare oberhalb der eingezeichneten Geraden (Trennfunktion) ist das Kriterium größer als Null (Zuordnung zu Fibrosen/Zirrhosen), für Wertepaare unterhalb der Geraden ist das Kriterium kleiner als Null (Zuordnung zu Normalpersonen).

Eine wichtige Aufgabe der Diskriminanzanalyse ist die Schätzung der Anteile derjenigen Personen aus den einzelnen Populationen, die mit der berechneten Trennfunktion richtig zugeordnet werden können. Das beste für relativ kleine Stichproben anwendbare Schätzverfahren ist die sog. „leaving-one-out“- oder auch „Jackknife“-Methode: für jedes Stichprobenelement wird eine Zuordnungsvorschrift aufgrund aller anderen Stichprobenelemente bestimmt und geprüft, ob das ausgelassene damit richtig klassifiziert werden kann oder nicht. Der Anteil der so erzielten richtigen Klassifikationen ergibt gerade den gewünschten Schätzwert.

Außer der Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests werden häufig die Vorhersagewerte des positiven bzw. negativen Testergebnisses zur Bewertung herangezogen. Das sind die Wahrscheinlichkeiten für eine richtige Diagnose in Abhängigkeit davon, ob das Testergebnis positiv oder negativ ausfällt. Für Einzelheiten und die Erläuterung des Schätzverfahrens wird auf die Literatur verwiesen (6, 7).

Ergebnisse

Mittelwerte und Korrelationen von MAO, NAG, Fibronectin und β_2 -Mikroglobulin in den Probandenkollektiven

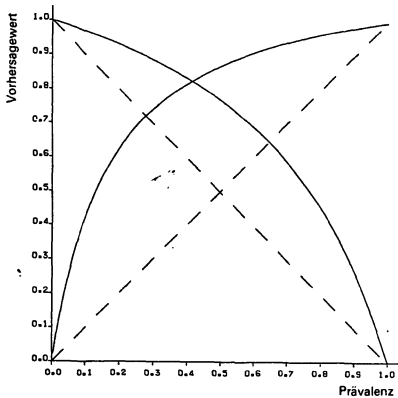


Abb. 2: Vorhersagewerte des positiven (—) und des negativen (---) Testergebnisses für den auf der Trennfunktion aus Abb. 1 basierenden diagnostischen Test. Die gestrichelten Linien geben die Vorhersagewerte des schlechtesten nicht systematisch verzerrten Diagnosekriteriums — nämlich des Münzwurfs — an

Tab. 2: Diagnostische Sensitivitäten und Spezifitäten der mit + angegebenen Parameter bzw. Parameterkombinationen bei Prüfung der Probandenkollektive Leberfibrosen und Leberzirrhosen gegen die Patientengruppe mit verschiedenen Nicht-Leber- und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen

| MAO | NAG | Fibro-nectin | β_2 -Mikro-globulin | Sensi-tivität | Spezi-fität |
|-----|-----|--------------|---------------------------|---------------|-------------|
| + | + | + | + | 0,60 | 0,71 |
| + | + | | | 0,55 | 0,70 |
| | + | | | 0,49 | 0,62 |
| + | + | | + | 0,58 | 0,73 |
| | + | | + | 0,64 | 0,55 |
| + | | + | | 0,58 | 0,76 |
| + | + | | + | 0,60 | 0,70 |

Tab. 3: Diagnostische Sensitivitäten und Spezifitäten der mit + angegebenen Parameter bzw. Parameterkombinationen bei Prüfung des Probandenkollektivs Leberfibrosen gegen die Patientengruppe mit verschiedenen Nicht-Leber- und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen

| MAO | NAG | Fibro-nectin | β_2 -Mikro-globulin | Sensi-tivität | Spezi-fität |
|-----|-----|--------------|---------------------------|---------------|-------------|
| + | | | | 0,64 | 0,80 |
| + | + | | | 0,62 | 0,83 |
| + | | + | | 0,67 | 0,80 |
| + | + | | + | 0,61 | 0,85 |

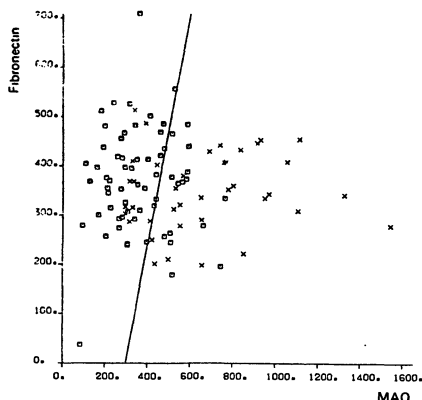


Abb. 3: Fibrinectin- (mg/l) und MAO-Werte (U/l) für Zirrhose- und Fibrosepatienten (x) und für Patienten mit diversen Nicht-Lebererkrankungen und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen (□). Die Gleichung der Trenngeraden ist $0,004 \text{ MAO} - 0,002 \text{ Fibrinectin} - 1,168 = 0$

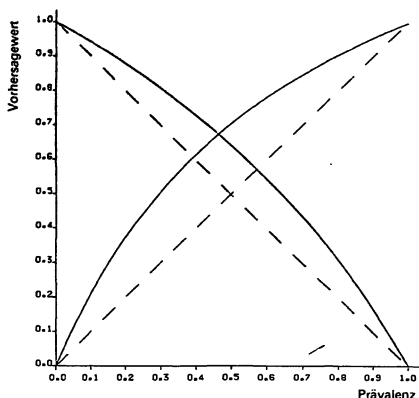


Abb. 4: Vorhersagewerte des positiven (—) und des negativen (---) Testergebnisses für den auf der Trennfunktion aus Abb. 3 basierenden diagnostischen Test. Siehe auch Legende zu Abb. 2

Die Verteilungen der einzelnen Parameter für die vorliegenden Probandenkollektive sind in Tab. 1 beschrieben. In guter Übereinstimmung mit früher publizierten Referenzwerten für MAO (12) und NAG (8) ergeben sich die vergleichsweise niedrigsten Enzymaktivitäten in der Gruppe gesunder Personen. Bei Patienten mit verschiedenen Nicht-Leber- und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen kommt es zu keiner Aktivitätszunahme der MAO, jedoch zu einer etwa 30%igen Steigerung der mittleren NAG-Aktivität. Patienten mit Leberfibrose und Leberzirrhose weisen eine weitere Erhöhung der NAG-Aktivität auf, jedoch zeigen nur solche mit Leberzirrhose einen deutlichen Anstieg der mittleren MAO-Aktivität. In Bestätigung früherer Befunde (10) zeigen fibroproliferative Lebererkrankungen im Vergleich zu Normalpersonen eine deutliche Erhöhung der β_2 -Mikroglobulin-Konzentration im Serum, jedoch eine Erniedrigung in bezug auf Patienten mit diversen Nicht-Leber- und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen (Tab. 1). Zwischen den genannten Parametern ergaben sich in keinem der Kollektive statistische Korrelationen.

Abgrenzung der Zirrhosen und Fibrosen gegenüber Normalpersonen

Die beste Trennung zwischen Gesunden und Zirrhose/Fibrose-Patienten wurde mit den Variablen NAG und β_2 -Mikroglobulin erzielt (Abb. 1) mit einer geschätzten Sensitivität (Anteil richtiger Zuordnungen zu Zirrhosen/Fibrosen) von 0,74 und einer geschätzten Spezifität (Anteil richtiger Zuordnungen zu Gesunden) von 0,89. Abb. 2 zeigt die Vorhersagewerte (predictive values) des Tests in Abhängigkeit von der Prävalenz der Zirrhosen/Fibrosen. Dieses Ergebnis stellt gegenüber den in früheren Untersuchungen erreichten (7, 8) eine nicht unerhebliche Verbesserung dar.

Abgrenzung der Zirrhosen und Fibrosen gegenüber Nicht-Lebererkrankungen und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen

Erwartungsgemäß fällt die Diagnosemöglichkeit für Zirrhosen und Fibrosen gegenüber einer Referenzpopulation von diversen Erkrankungen nicht so günstig aus, wie gegenüber gesunden Personen. Tab. 2 gibt die mit Hilfe einer linearen Trennfunktion erzielbaren Werte für Sensitivität und Spezifität für verschiedene „brauchbare“ Parameterkombinationen an. Die nicht in der Tabelle aufgeführten Parameter bzw. Parameterkombinationen ergaben deutlich schlechtere Werte. Die günstigsten Werte liefert das Kriterium, das auf der MAO und dem Fibrinectin basiert. Abb. 3 zeigt die Stichproben und die Trenngerade. Die Steilheit der Geraden zeigt, daß das Kriterium im wesentlichen von der MAO beeinflusst wird. Tab. 2 zeigt aber, daß die Hinzunahme von Fibrinectin einen Gewinn von 3% bei der Sensitivität und von 6% bei der Spezifität bewirkt. Abb. 4 gibt für den zugehörigen diagnostischen Test die Vorhersagewerte an. Insbesondere zeigt Tab. 2, daß durch Einbeziehung der restlichen Parameter keine Verbesserung erreichbar ist.

Abgrenzung der Zirrhosen gegenüber verschiedenen Nicht-Lebererkrankungen und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen

Bei der zusammengefaßten Betrachtung von Zirrhosen und Fibrosen führt der Übergangscharakter der letzteren bei der Trennung von verschiedenen anderen Erkrankungen zu Schwierigkeiten (7, 8). Deshalb wurde die Trennmöglichkeit für Zirrhosen alleine gegenüber diversen Erkrankungen mit Hilfe der gegebenen Parameterkombinationen untersucht. Tab. 3 zeigt die Kombinationen mit den günstigsten Ergebnis-

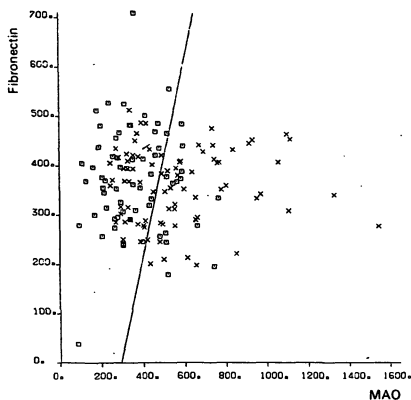


Abb. 5: Fibronectin- (mg/l) und MAO-Werte (U/l) für Zirrhosepatienten (x) und für Patienten mit diversen Nicht-Lebererkrankungen (□). Die Gleichung der Trenngeraden ist $0,007 \text{ MAO} + 0,003 \text{ Fibronectin} - 2,087 = 0$

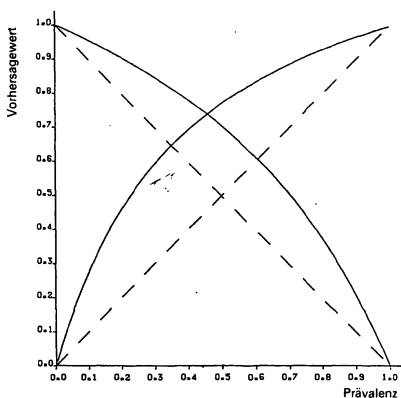


Abb. 6: Vorhersagewerte des positiven (—) und des negativen (---) Testergebnisses für den auf der Trennfunktion aus Abb. 5 basierenden diagnostischen Test. Siehe auch Legende zu Abb. 2

sen. Eine deutliche Verbesserung gegenüber den Werten aus Tab. 2 ist erwartungsgemäß erkennbar. Für die beste Kombination MAO + Fibronectin gibt Abb. 5 die Stichproben und die Trennfunktion wieder. Abb. 6 zeigt die zugehörigen Vorhersagewerte.

Abgrenzung von verschiedenen Nicht-Leber- und nicht-fibrotischen Lebererkrankungen gegenüber Normalpersonen.

Zur Vervollständigung sei erwähnt, daß der Versuch, die offenbar gesunden Probanden von Patienten mit verschiedenen nicht-zirrhatischen und nicht-fibrotischen Erkrankungen zu trennen, geschätzte Raten für die richtige Zuordnung von 0,61 (diverse Erkrankungen) und 0,82 (Gesunde) ergab. Verwendet dabei wurden alle vier Parameter.

Diskussion

Die Leberfibrose ist gekennzeichnet durch erhebliche Konzentrationszunahme, topographische Umverteilung und Veränderungen der molekularen Zusammensetzung der Komponenten der interzellulären Matrix (16, 17). Bedingt durch deren ubiquitäre Verteilung im Körper, durch das Fehlen fibrosespezifischer Kollagene, Proteoglykane oder Glykoproteine, durch die Chronizität des fibrotischen Prozesses und nicht zuletzt durch die in vielen Bereichen noch weitgehend unbekannte zelluläre und molekulare Pathogenese dieser Reaktionsform des chronisch geschädigten Parenchyms stehen nur beschränkte klinisch-biochemische Möglichkeiten zur Früherkennung der Leberfibrosen, zur Verlaufskontrolle von Aktivität und Ausmaß des fibrotischen Transformations-

vorganges und zur Kontrolle der Effektivität einer eventl. antifibrotischen Therapie zur Verfügung. Wie bereits eingangs erwähnt und früher diskutiert (1, 7, 8, 10) ist die Einordnung auch der hier verwendeten, empirisch ermittelten Parameter in die Biochemie und Pathobiochemie des hepatischen Bindegewebsstoffwechsels nur hypothetisch. Trotz dieser Ungewißheit weisen die mitgeteilten Sensitivitäten, Spezifitäten und Vorhersagewerte auf eine, wenn auch nicht voll zufriedenstellende, diagnostische Brauchbarkeit der genannten Kenngrößen hin. Die vorgelegten Befunde erlauben es dem jeweiligen Untersucher zu entscheiden, welche der Einzelparameter oder Parameterkombinationen zu wählen sind. Bei dieser Entscheidung sind die Praktikabilität der Methode (z. B. zeitverbrauchende, nicht mechanisierbare Extraktionsverfahren bei der Bestimmung von MAO und NAG, kostenintensiver Radioimmunoassay für β_2 -Mikroglobulin, Verwendung von Plasma anstelle von Serum zur Fibronectinbestimmung) sowie einige Störfaktoren der jeweiligen Bestimmungen zu berücksichtigen. Letztere gelten in besonderem Maße für den raschen Aktivitätsverlust der MAO *in vitro* (12) und für die durch unbemerkte Gerinnung bedingte Erniedrigung der Fibronectinkonzentration (14). Für die Anwendung in der Routine ist die kombinierte Bestimmung von Parametern in zwei unterschiedliche Proben (MAO im Serum und Fibronectin im EDTA-Plasma) sicherlich nachteilig, so daß aus diesem Grunde alternativ zur Kombination MAO/Fibronectin die gemeinsame Bestimmung MAO/NAG (gleiche Sensitivität, etwas geringere Spezifität, Tab. 2) vorgeschlagen wird. Frühere Untersuchungen geben im Detail Auskunft über deren Kriterien der diagnostischen Validität (9).

Schließlich sei noch die Relativität der angegebenen Sensitivitäten, Spezifitäten und Vorhersagewerte betont, wie sie sich

naturgemäß in der Auswahl der Referenzkollektive und in den jeweils vorgegebenen Prävalenzen von Zirrhosen/Fibrosen in den untersuchten Probandenkollektiven ausdrückt. In der hepatologischen Praxis wird das zugrundeliegende Referenzkollektiv zwischen den beiden hier gewählten Extremen (Gesunde bzw. nicht-fibrotische Lebererkrankungen) liegen und die hohe Prävalenz der fibrotischen Lebererkrankungen, die durch deren Präselektion mit Hilfe klinischer und physikalischer Untersuchungsverfahren erreichbar ist, zu einer weiteren Verbesserung der Vorhersagewerte führen.

Schrifttum:

1. GRESSNER, A. M.: Klinisch-chemische Parameter der hepatischen Fibrogenese. *Lab. med.* 3, 201–208 (1979).
2. GRESSNER, A. M.: Zur Pathobiochemie und klinisch-chemischen Diagnostik der Leberfibrose. *Med. Welt* 31, 11–16 (1980).
3. HAHN, E. G., MARTINI, G. A.: Diagnostische Parameter der Kollagenbiosynthese. *Internist* 21, 195–201 (1980).
4. GRESSNER, A. M.: Connective tissue metabolism in liver diseases and its relevance in clinical-chemical diagnosis. In: XI Int. Congr. Clin. Chem. (Kaiser, E., Gabl, F., Müller, M. M., Bayer, M., eds.) 687–698, De Gruyter, Berlin (1982).
5. POTT, G., GERLACH, U.: Leberfibrose. Anmerkungen zur Pathophysiologie und Aktivitätsdiagnostik. *Med. Welt* 28, 2030–2034 (1977).
6. BÜTTNER, J.: Die Beurteilung des diagnostischen Wertes klinisch-chemischer Untersuchungen. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 15, 1–12 (1977).
7. GRESSNER, A. M., ROEBRUCK, P., TITTOR, W.: Validity of monoamine oxidase in serum for diagnosis of liver cirrhosis: estimation of predictive values, sensitivities and specificities. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 20, 509–514 (1982).
8. GRESSNER, A. M., ROEBRUCK, P.: Predictive values of serum N-acetyl- β -D-glucosaminidase for fibrotic liver disorders – correlation with monoamine oxidase activity. *Clin. Chim. Acta* 124, 315–326 (1982).
9. GRESSNER, A. M., ROEBRUCK, P.: The diagnostic potential of the combined determination of serum monoamine oxidase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase for fibroproliferative liver diseases. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21, 19–23 (1983).
10. GRESSNER, A. M., WALLRAFF, P., ROEBRUCK, P., TITTOR, W.: Fibronectin und β 2-Mikroglobulin im Plasma chronisch Leberkranker und ihre Beziehungen zu „zirrhosenanzeigenden“ Enzymaktivitäten im Serum. *Lab.med.* 5, 190–196 (1981).
11. ONO, T., ETO, K., SAKATA, Y., TAKEDA, M.: A new colorimetric assay for monoamine oxidase in serum and its clinical application. *J. Lab. Clin. Med.* 85, 1022–1031 (1975).
12. GRESSNER, A. M.: Evaluation of the Assay for Serum Monoamine oxidase – an index of hepatic fibrosis. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 921–927 (1980).
13. FINDLAY, J., LEVY, G. A., MARSH, C. A.: Inhibitors of β -N-Acetyl-glucosaminidase. *Biochem. J.* 69, 467–476 (1958).
14. GRESSNER, A. M., WALLRAFF, P.: Der Einsatz der Laserphelometrie zur Bestimmung und rechnerunterstützten Auswertung der Fibronectinkonzentration in verschiedenen Körperflüssigkeiten. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18, 797–805 (1980).
15. LACHENBRUCH, P. A.: *Discriminant Analysis*. Hafner Press, New York (1975).
16. ROJKIND, M., PONCE-NOYOLA, P.: The Extracellular Matrix of the Liver. *Collagen Rel. Res.* 2, 151–176 (1982).
17. GRESSNER, A. M.: Pathobiochemische und klinisch-chemische Aspekte des Bindegewebstoffwechsels in der chronisch geschädigten Leber. *Krankenhausarzt* 55, 63–70 (1982).

Anschrift der Verfasser:

Priv.-Doz. Dr. P. Roebuck
Abt. Med. Statistik und Dokumentation, RWTH Klinikum
Pauwelsstraße, D-5100 Aachen

Prof. Dr. A. M. Gressner
Abt. Klinische Chemie und Zentrallabor
Philipps-Universität
Uferstraße 2a
D-3550 Marburg

