

# Biochemická vyšetření pankreatu

Z hlediska laboratorní diagnostiky lze vyšetření pankreatu rozdělit na:

- vyšetření **endokrinních funkcí pankreatu**;
- vyšetření **exokrinní části pankreatu**:
  - průkaz **poškození acinózních buněk**;
  - vyšetření **sekrece pankreatické šťávy**.

## Endokrinní funkce pankreatu

Vnitřně sekreторická část pankreatu produkuje především inzulin, glukagon a somatostatin. Poruchy tvorby těchto hormonů jsou pojednány v příslušných kapitolách, především v souvislosti s diabetem mellitem.

## Exokrinní funkce pankreatu

Vyšetření exokrinní funkce pankreatu není příliš rozšířené. Využívá se především v diagnostice chronické pankreatitidy. Opírá se jednak o **přímé testy**, kdy se měří koncentrace či aktivita pankreatických enzymů (chymotrypsinu, elastázy) ve stolici, jednak o **testy nepřímé**, založené na podání vhodných substrátů pankreatických enzymů a detekci štěpných produktů vzniklých jejich trávením.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Pankreatitida chronická (laboratorní diagnostika).*

## Biochemické vyšetření pankreatu

K rozsáhlému poškození pankreatické tkáně dochází především při **akutní pankreatitidě**. Jde o život ohrožující náhlou příhodu břišní, při které se aktivují trávicí enzymy pankreatické šťávy, což vede k natrávení tkáně slinivky břišní. Spouštěčem akutní pankreatitidy bývá nejčastěji přetlak ve společných pankreatických a žlučových vývodných cestách (při cholelitiáze) a alkoholismus.

Rozpad pankreatických acinárních buněk vede k vylití jejich součástí do krve. V séru pak můžeme prokázat vysokou katalytickou koncentraci pankreatických enzymů, zejména  $\alpha$ -amylázy a pankreatické lipázy.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Pankreatitida akutní.*

### $\alpha$ -amyláza

**$\alpha$ -amyláza**<sup>[1] [2] [3] [4] [5] [6] [7] [8] [9] [10]</sup> (**AMS**,  $\alpha$ -1,4-glukan-4-glukan-hydroláza, EC 3.2.1.1) hydrolyzuje  $\alpha$ -1-4-glykosidovou vazbu; pH optimum  $\alpha$ -amylázy je mezi 7,0–7,2. V organismu se vyskytuje ve dvou formách – jako slinný a pankreatický izoenzym podle orgánového původu. Obě izoformy AMS se od sebe liší cukernou složkou a lze je odlišit elektroforeticky, či podle precipitace pomocí speciálního lektinu nebo protilátky<sup>[11]</sup>.  $\alpha$ -amyláza je tvořena v acinárních buňkách pankreatu a hromadí se v zymogenních granulech. Do střevního lumen se dostává ve formě pankreatického sekretu (pankreatické šťávy) spolu s dalšími trávicími enzymy. Za fyziologických podmínek není molekula enzymu absorbována střevním povrchem a sérová hladina je nízká, odpovídající aktivitě enzymu uvolněného do cirkulace přímo ze žláзовých buněk, resp. lymfatickou drenáží. Molekulová hmotnost  $\alpha$ -amylázy je 55 000. Z cirkulace je  $\alpha$ -amyláza eliminována v ledvinách glomerulární filtrací.

Makroforma enzymu (**makroamyláza**)<sup>[12] [13] [14] [15] [16]</sup> vzniká vazbou enzymu na některé bílkoviny krevního séra, především imunoglobuliny, cirkulující imunokomplexy nebo jiné glykoproteiny. Makroforma enzymu má podstatně vyšší molekulovou hmotnost (od 150 000 do 2 000 000) a není proto eliminována glomerulární filtrací. Pro klinickou diagnostiku se stanovuje hladina  $\alpha$ -amylázy v séru, v moči a vypočítává se index clearance amylázy/kreatininu.

Laboratorně lze stanovovat koncentraci proteinu imunologickými technikami nebo enzymovou katalytickou koncentraci pomocí specifických substrátů. Při stanovení jak hmotnostní, tak katalytické koncentrace enzymu je nutno zvažovat přítomnost inhibitorů v séru a vznik makroforem enzymů. Běžně používané stanovení aktivity  $\alpha$ -amylázy je založeno na štěpení chromogenního substrátu. Starší postupy, které používaly deriváty přirozeného substrátu, škrobu, byly obtížně standardizovatelné a již se nepoužívají. Současné syntetické substráty jsou odvozeny od maltózy, jako chromogen je nejčastěji používán 4-nitrofenylfosfát. Stanovení izoenzymů  $\alpha$ -amylázy je umožněno inhibicí jednoho z obou izoenzymů specifickou monoklonální protilátkou.



Pankreatická amyláza

V nejčastějším uspořádání je ve vzorku nejprve protilátkou inhibován slinný izoenzym amylázy. Reakce se startuje přidáním **substrátu chráněného etylidenem** – heptamerem glukózy, na jehož jednom konci je navázán chromogen a na druhém konci etyliden. Amyláza ze vzorku hydrolyzuje oligoglukosidový řetězec. K uvolnění barevného nitrofenolu pak dojde účinkem další složky reakční směsi, **glukosidázy**. Protože  $\alpha$ -glukosidáza dokáže odštěpit jen glukózu na konci řetězce a nerozpozná glukózu chráněnou etylidenem, je substrát, který nebyl hydrolyzován amylázou, před účinkem glukosidázy chráněn<sup>[17]</sup>.

## Referenční hodnoty<sup>[18]</sup>

**S-AMS** celková amyláza v séru **0,30–1,67  $\mu$ kat/l**

**U-AMS** celková amyláza v moči **< 7,67  $\mu$ kat/l**

**S-pAMS** pankreatická amyláza v séru **0,22–0,88  $\mu$ kat/l**

**U-pAMS** pankreatická amyláza v moči **< 5,83  $\mu$ kat/l**

**makroamyláza nedetekovatelná**

## Interpretace nálezů

Z praktického hlediska je významným nálezem zvýšení aktivity  $\alpha$ -amylázy v séru. Může být způsobeno:

- **zvýšeným uvolňováním** amylázy z poškozených buněk pankreatu nebo slinných žláz, nebo
- **snížením glomerulární filtrace**, kdy se tato malá bílkovina ztrácí do primitivní moče v menším rozsahu než obvykle.

**Hyperamylázemie** při poškození pankreatu nebo slinných žláz je při normálních renálních funkcích provázána i vzestupem aktivity amylázy v moči; je ovšem nutné přihlédnout k tomu, že se v moči objeví až s několikahodinovým zpožděním. V tomto případě zbývá rozlišit, zda amyláza pochází z pankreatu či slinných žláz. Nelze-li rozhodnout na základě klinického obrazu, dá odpověď stanovení izoenzymů.

Snížení glomerulární filtrace amylázy je nejčastěji důsledkem renální insuficience. V tomto případě bude hyperamylázemie provázána nízkou koncentrací a aktivitou amylázy v moči. Jinou, podstatně vzácnější příčinou snížení renální clearance amylázy je makroamylázemie.

## Lipáza

Novějším a specifitějším markerem poškození pankreatu je lipáza<sup>[20][21][22][23][24][25][26][27][28][29][30][31][32][33][34][35]</sup>.

**Lipáza** (triacylglycerolacylhydroláza, EC 3.1.1.3) je glykoprotein se 420 449 aminokyselinovými zbytky a molekulovou hmotností 46 000–56 000 u pankreatické lipázy a 32 000–39 000 u sérové lipázy.

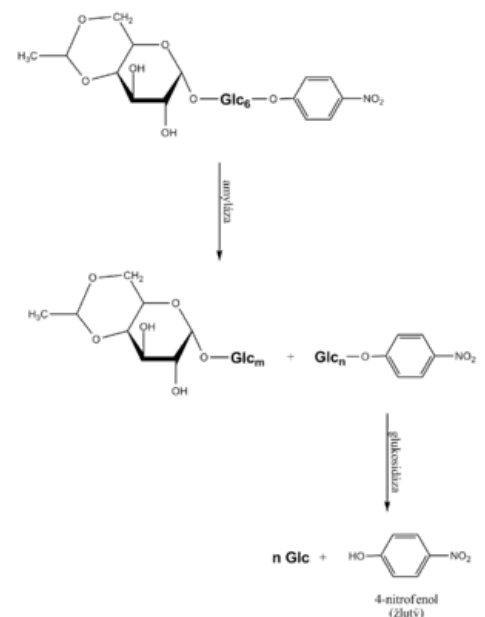
Jde o hydrolytický enzym štěpící triacylglyceroly s mastnými kyselinami o delším řetězci než 12 uhlíků, v přítomnosti žlučových kyselin štěpí tuk na monoacylglyceroly a diacylglyceroly. Predilekčně jsou odštěpovány mastné kyseliny v polohách *sn*-1 a *sn*-3. Tak jako  $\alpha$ -amyláza je i lipáza produkována žláзовými buňkami pankreatu a secernována do střevního lumen v pankreatické šťávě. Koncentrační gradient mezi pankreatickou tkání a sérovou lipázou je cca 20 000:1.

Stanovení aktivity lipázy zahrnuje různé postupy:

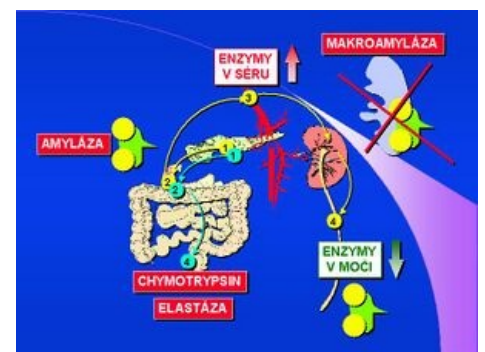
- enzymové štěpení přirozeného substrátu;
- enzymové členění chromogenních a fluorogenních substrátů;
- metody imunologické (ELISA, latexová aglutinace).

Nejčastěji se používá nefelometrických a turbidimetrických postupů založených na štěpení přirozeného substrátu triacylglycerolu. Většina souprav pro enzymové stanovení lipázy obsahuje i ko-lipázu.

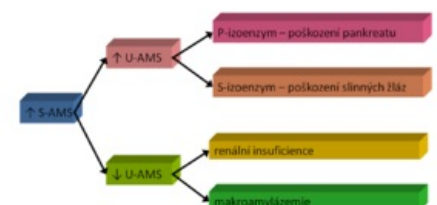
Turbidimetrické stanovení aktivity lipázy je založeno na vyčeření olejové emulze působením lipolytické aktivity. Tento proces však může být ovlivněn i dalšími složkami séra, např. tzv. vyčeřovacím faktorem pseudolipázou. Nejčastěji se jedná o cirkulující imunokomplexy typu IgM. Pro diferenciální stanovení sérové pankreatické lipázy vedle pseudolipázy s použitím standardního turbidimetrického postupu je vypracován postup založený na inaktivaci pseudolipázy  $\beta$ -merkaptetoanolem, který vede k disociaci IgM komplexů. Novější chromogenní testy jsou založeny na enzymové kaskádě lipázy štěpící 1,2-diacylglycerol, glycerolkináze, glycerol-3-fosfát oxidáze a peroxidáze s chromogenním produktem. Zcela nový typ techniky stanovení pankreatické lipázy je založen na změně vodivosti roztoku uvolněním mastných kyselin ze substrátu – trioleinu; detekována je akustickým snímačem a měřenou veličinou je frekvenční odpověď.



Princip stanovení amylázy kolorimetrickou metodou



Změny hladiny amylázy



Interpretace nálezů při vyšší aktivitě amylázy v séru. Upraveno podle <sup>[19]</sup>

**Vzestup koncentrace pankreatické lipázy** je specifitější známkou akutní pankreatitidy než  $\alpha$ -amyláza. Její hladina v séru zůstává zvýšena asi dva týdny po akutní příhodě. Podstatněji se nezvyšuje u renálních onemocnění.

## Reference

1. CARROLL, Jennifer K, Brian HERRICK a Teresa GIPSON. Acute Pancreatitis: Diagnosis, Prognosis, and Treatment. *American Family Physician* [online]. 2007, vol. 75, no. 10, s. 1513-1520, dostupné také z <<https://www.aafp.org/afp/2007/0515/p1513.pdf>>. ISSN 0002-838X.
2. KOCNA, Petr a Tomáš ZIMA. Hyperamylazémie, laboratorní a klinické aspekty. *Časopis lékařů českých* [online]. 2006, vol. 145, s. 449-452, dostupné také z <<https://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych-clanek?id=3093>>. ISSN 1803-6597.
3. QUARINO, L, Q DANG a J HARTMANN. An ELISA method for the identification of salivary amylase. *Journal of forensic sciences*. 2005, vol. 50, no. 4, s. 873-876, ISSN 0022-1198.
4. SMITH, Ross C, James SOUTHWELL-KEELY a Douglas CHESHER. Should serum pancreatic lipase replace serum amylase as a biomarker of acute pancreatitis?. *ANZ journal of surgery* [online]. 2005, vol. 75, no. 6, s. 399-404, dostupné také z <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1445-2197.2005.03391.x?cookieSet=1>>. ISSN 1445-1433.
5. PANTEGHINI, Mauro, Ferruccio CERIOTTI a Franca PAGANI, et al. Recommendations for the routine use of pancreatic amylase measurement instead of total amylase for the diagnosis and monitoring of pancreatic pathology. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. 2002, vol. 40, no. 2, s. 97-100, dostupné také z <<https://www.degruyter.com/doi/abs/10.1515/CCLM.2002.017>>. ISSN 1434-6621.
6. TREACY, John, Anthony WILLIAMS a Renz BAIS, et al. Evaluation of amylase and lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *ANZ Journal of Surgery* [online]. 2001, vol. 71, no. 10, s. 577-82, dostupné také z <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1445-2197.2001.02220.x?cookieSet=1>>. ISSN 1445-1433.
7. PEZZILLI, R, G TALAMINIL a L GULLO. Behaviour of serum pancreatic enzymes in chronic pancreatitis. *Digestive and Liver Disease*. 2000, vol. 32, no. 3, s. 233-237, ISSN 1590-8658.
8. KEIM, V, N TEICH a F FIEDLER, et al. A comparison of lipase and amylase in the diagnosis of acute pancreatitis in patients with abdominal pain. *Pancreas*. 1998, vol. 16, no. 1, s. 45-49, ISSN 0885-3177.
9. CHASE, CW, DE BARKER a WL RUSSELL. Serum amylase and lipase in the evaluation of acute abdominal pain. *The American surgeon*. 1996, vol. 62, no. 12, s. 1028-1033, ISSN 0003-1348.
10. MALFERTHEINER, P a J ENRIQUE DOMÍNGUEZ-MUÑOZ. Clinical and laboratory diagnosis of acute pancreatitis. *Annali italiani di chirurgia*. 1995, vol. 66, no. 2, s. 165-170, ISSN 0003-469X.
11. RACEK, Jaroslav, et al. *Klinická biochemie*. 2. vydání. Praha : Galén, 2006. 329 s. s. 87. ISBN 80-7262-324-9.
12. BERMEJO, JF, J CARBONE a JJ RODRIGUEZ, et al. Macroamylasaemia, IgA hypergammaglobulinaemia and autoimmunity in a patient with Down syndrome and coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2003, vol. 38, no. 4, s. 445-447, ISSN 0036-5521.
13. LAWSON, GJ. Prevalence of macroamylasaemia using polyethylene glycol precipitation as a screening method. *Annals of clinical biochemistry*. 2001, vol. 38(Pt 1), s. 37-45, ISSN 0004-5632.
14. VENTRUCCI, M, A CIPOLLA a M MIDDONNO, et al. Macroamylase detection in serum using selective precipitation: a rapid and reliable assay. *Italian journal of gastroenterology and hepatology*. 1999, vol. 31, no. 9, s. 846-849, ISSN 1125-8055.
15. CUTOLO, M, A SULLI a A BARONE, et al. Macroamylasemia: a possible cause of unexplained hyperamylasemia in rheumatoid arthritis. *British journal of rheumatology*. 1995, vol. 34, no. 3, s. 290-292, ISSN 0263-7103.
16. HORTIN, GL, AL SUMMERFIELD a TR WILHITE, et al. Detection of autoantibodies to amylase by ELISA: comparison of detection of macroamylase and free autoantibody. *Clinical chemistry* [online]. 1994, vol. 40, no. 12, s. 2254-2259, dostupné také z <<http://clinchem.aaccjnl.org/content/clinchem/40/12/2254.full.pdf>>. ISSN 0009-9147.
17. Roche Diagnostics. *Pankreatická  $\alpha$ -amyláza EPS (AMY-P)* [online]. Poslední revize 2009-01, [cit. 2010-04-09]. <<http://www.roche-diagnostics.cz/objednavky/info/20766623pi.pdf>>.
18. Všeobecná fakultní nemocnice v Praze. . *Přehled laboratorních vyšetření prováděných ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze*. 3. vydání. Praha : Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, 2007. 328 s.
19. RACEK, Jaroslav, et al. *Klinická biochemie*. 2. vydání. Praha : Galén, 2006. 329 s. s. 87. ISBN 80-7262-324-9.
20. CARROLL, Jennifer K, Brian HERRICK a Teresa GIPSON. Acute Pancreatitis: Diagnosis, Prognosis, and Treatment. *American Family Physician* [online]. 2007, vol. 75, no. 10, s. 1513-1520, dostupné také z <<https://www.aafp.org/afp/2007/0515/p1513.pdf>>. ISSN 0002-838X.
21. YAMADAA, Magohei a Toshio FUJITA. New procedure for the measurement of pancreatic lipase activity in human serum using a thioester substrate. *Clinica chimica acta*. 2007, vol. 383, no. 1-2, s. 85-90, ISSN 0009-8981.
22. AL-BAHRANI, Ahmed Z a Basil J AMMORI. Clinical laboratory assessment of acute pancreatitis. *Clinica chimica acta*. 2005, vol. 362, no. 1-2, s. 26-48, ISSN 0009-8981.
23. SMITH, Ross C, James SOUTHWELL-KEELY a Douglas CHESHER. Should serum pancreatic lipase replace serum amylase as a biomarker of acute pancreatitis?. *ANZ journal of surgery* [online]. 2005, vol. 75, no. 6, s. 399-404, dostupné také z <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1445-2197.2005.03391.x>>. ISSN 1445-1433.
24. WALKOWIAK, J, A LISOWSKA a J PRZYSLAWSKI, et al. Faecal elastase-1 test is superior to faecal lipase test in the assessment of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Acta paediatrica*. 2004, vol. 93, no. 8, s. 1042-1045, ISSN 0001-656X.
25. GRANDVAL, P, A DE CARO a J DE CARO, et al. Critical evaluation of a specific ELISA and two enzymatic assays of pancreatic lipases in human sera. *Pancreatology*. 2004, vol. 4, no. 6, s. 495-503, ISSN 1424-3903.
26. WALKOWIAK, I, S NOUSIA-ARVANITAKIS a A LISOWSKA, et al. Serum lipase after secretin stimulation detects

26. WALKOWIAK, J, KH HERZIG a K STRZYKALA, et al. Serum lipase and serum amylase levels in mild pancreatic involvement in cystic fibrosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2004, vol. 38, no. 4, s. 430-435, ISSN 0277-2116.
27. WALKOWIAK, J, KH HERZIG a K STRZYKALA, et al. Porównanie przydatności oznaczania elastazy-1 i lipazy w stolcu w ocenie funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki u chorych na mukowiscydozę. *Medycyna wieku rozwojowego*. 2003, vol. 7, no. 2, s. 149-155, ISSN 1428-345X.
28. STEINHAEUER, JR, RW HARDY a CA ROBINSON, et al. Comparison of non-diglyceride- and diglyceride-based assays for pancreatic lipase activity. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2002, vol. 16, no. 1, s. 52-55, ISSN 0887-8013.
29. PANTEGHINI, Mauro, Ferruccio CERIOTTI a Franca PAGANI, et al. Recommendations for the routine use of pancreatic amylase measurement instead of total amylase for the diagnosis and monitoring of pancreatic pathology. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. 2002, vol. 40, no. 2, s. 97-100, dostępne také z <<https://www.degruyter.com/doi/abs/10.1515/CCLM.2002.017>>. ISSN 1434-6621.
30. TREACY, John, Anthony WILLIAMS a Renz BAIS, et al. Evaluation of amylase and lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *ANZ Journal of Surgery* [online]. 2001, vol. 71, no. 10, s. 577-82, dostępne také z <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1445-2197.2001.02220.x>>. ISSN 1445-1433.
31. PEZZILLI, R, G TALAMINIL a L GULLO. Behaviour of serum pancreatic enzymes in chronic pancreatitis. *Digestive and Liver Disease*. 2000, vol. 32, no. 3, s. 233-237, ISSN 1590-8658.
32. KEIM, V, N TEICH a F FIEDLER, et al. A comparison of lipase and amylase in the diagnosis of acute pancreatitis in patients with abdominal pain. *Pancreas*. 1998, vol. 16, no. 1, s. 45-49, ISSN 0885-3177.
33. LESSINGER, JM, P ARZOGLOU a P RAMOS, et al. Preparation and characterization of reference materials for human pancreatic lipase: BCR 693 (from human pancreatic juice) and BCR 694 (recombinant). *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2003, vol. 41, no. 2, s. 169-176, ISSN 1434-6621.
34. CHASE, CW, DE BARKER a WL RUSSELL. Serum amylase and lipase in the evaluation of acute abdominal pain. *The American surgeon*. 1996, vol. 62, no. 12, s. 1028-1033, ISSN 0003-1348.
35. MALFERTHEINER, P a J ENRIQUE DOMÍNGUEZ-MUÑOZ. Clinical and laboratory diagnosis of acute pancreatitis. *Annali italiani di chirurgia*. 1995, vol. 66, no. 2, s. 165-170, ISSN 0003-469X.
36. Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. *Lipáza* [online]. [cit. 2016-04-07]. <<https://ulbld.lf1.cuni.cz/seznam-lab-vysetreni?vysetreni=1086>>.