

Po stimulaci vůdčími cytokiny se známým biologickým účinkem (interferon gamma IFN γ , PDGF platelet derived growth factor, TGF β transforming growth factor beta) docházelo ke změnám množství messenger RNA pro IGF II R. (TaqMan analýza). V rámci odpovědi na IFN gamma (ale ne pro PDGF a TGF β) došlo k snížení exprese mRNA pro IGF II R.

Závěr

IGF II R je přítomen na povrchu hvězdicovitých buněk pankreatu laboratorního potkana. Aktivace hvězdicovitých buněk je asociována s časným nárůstem exprese IGF II receptoru. Navýšení exprese tohoto receptoru časově mírně předchází aktivaci hvězdicovitých buněk (definována mírou exprese alfa SMA).

IGF II R je tedy prokazatelně navýšeně exprimován u aktivovaných pancreatic stellate cells. Další studie s cílem objasnit jeho využití pro zamezení aktivace a fibroprodukce těchto buněk, jsou nezbytné.

Literatura

- 1 - Beljaars et al: Albumin modified with mannose 6-phosphate: A potential carrier for selective delivery of antifibrotic drugs to rat and human hepatic stellate cells, *Hepatology*, 1999, 29: 1486 - 93
- 2 - Beljaars et al: Characteristics of the hepatic stellate cell-selective carrier mannose 6-phosphate modified albumin (M6P(28)-HSA); *Liver*, 2001, 21: 320 - 8
- 3 - Beljaars et al: The antiproliferative drug Doxorubicin inhibits liver fibrosis in bile duct ligated rats and can be selectively delivered to hepatic stellate cells in vivo. *Pharmacol Exp Ther*, 2006, 26, Review
- 4 - Jaster R: Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Molecular Cancer*, 2004, 3.26 doi:10.1186/1476 - 4598 - 3 - 26.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Hana Nechutová
III. Interní gastroenterologická klinika
Fakultní nemocnice Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno Bohunice
tel: + 420 5 3223 3500
mail: hankanech@seznam.cz

Testy exokrinní funkce pankreatu - elastáza 1 ve stolici a de- chový test s ^{13}C -MTG

¹Kocna P, ¹Vaničková Z, ²Krechler T, ²Lukáš M, ³Doseděl J, ⁴Kohout P

¹ Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky I.LF UK a VFN Praha

Přednosta: Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

² 4.interní klinika I.LF UK a VFN Praha

Přednosta: Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

³ Interní oddělení Nemocnice milosrdných sester sv.Karla Boromejského v Praze

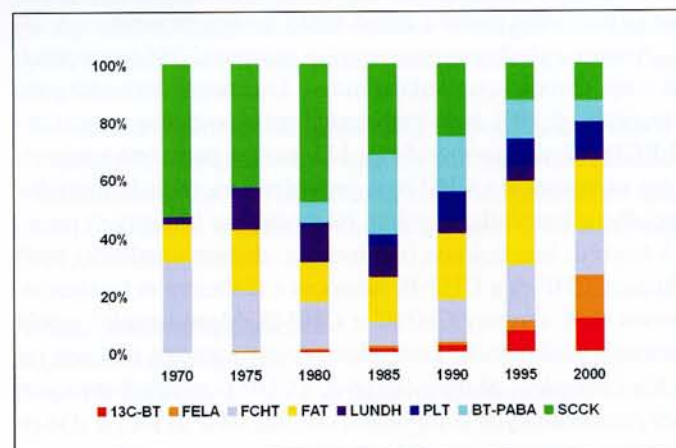
Primář: MUDr. Josef Doseděl

⁴ 2.interní klinika Fakultní Thomayerova nemocnice, Praha
Přednosta: MUDr. Zdeněk Beneš, CSc.

Úvod

Problematika funkční diagnostiky exokrinního pankreatu zůstává stále diskutovaným tématem - jak z pohledu laboratorních metodik, tak z pohledu klinických aplikací. Klinický význam laboratorních testů pankreatické funkce zahrnuje široké spektrum od primární diagnostiky především chronické pankreatitidy a cystické fibrózy, stanovení stupně postižení pankreatu, dlouhodobého sledování nemocných s chronickou pankreatitidou, včetně monitorování suplementační terapie pankreatickými enzymy až po diferenciální diagnostiku malabsorpčního syndromu.

Zlatým standardem zůstává stále klasický sekretin-pankreozyminový test (SCCK, PZS). Jeho provedení je velmi náročné



Obrázek 1 - Poměrné zastoupení jednotlivých testů exokrinní funkce pankreatu v klinických studiích v období 1970 - 2000 (modifikováno ze studie Boeck 2001).

technicky a laboratorně, pro pacienta velmi zatěžující, a pro rutinní diagnostiku se tak stává nedostupným. Frekvence použití SCCK-PZS testu klesla během uplynulých 30 let z 55 % na cca 10 %. Dalším, zcela zásadním testem posouzení pankreatické malabsorpce je kvantitativní analýza tuků v 72-hodinovém sběru. Rovněž tento test není v našich laboratořích dostupný, i když jeho frekvence ve světě zůstává během uplynulých 30 let stále cca na 20 %. Ze studie sumarizující frekvenci testů exokrinní funkce pankreatu (Boeck 2001, obrázek č.1) je v roce 2000 nejčastějším přístupem vyšetření chymotrypsinu nebo elastázy ve stolici a dechový test s ^{13}C -MTG, zahrnující asi 40 % testů. Stanovení elastázy I ve stolici (FELA) a dechový test (MTG) jsou proto předmětem naší studie.

Metodika a provedení funkčních testů

Test exokrinní funkce pankreatu FELA (Fecal Elastase 1) byl proveden u 386 nemocných se suspektní chronickou pankreatitidou v rámci diagnostického programu. Koncentrace pankreatické elastázy I ve stolici (FELA) byla stanovena ELISA metodou s monoklonální protilátkou (souprava ScheBoTech) standardním postupem, cut-off hodnoty jsou 200 $\mu\text{g/g}$ stolice jako dolní hranice normy, 100 $\mu\text{g/g}$ stolice jako hranice těžké insuficience. Vzorky stolice od 277 nemocných byly testovány také ELISA metodou s polyklonální protilátkou (souprava Bioserv).

^{13}C -MTG dechový test byl proveden u 184 nemocných po podání 250 mg ^{13}C -MTG substrátu spolu s testačním pokrmem, který je navržen tak, aby vyhovoval širokému spektru nemocných s gastroenterologickou problematikou (křehký chléb, bezlepkový, 100g; rostlinný tuk Rama 20g). Vzorky vydechaného vzduchu byly odebírány 6 hodin a poměr $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ve frakci CO_2 byl analyzován metodou NDIRS (NonDispersive InfraRed Spectroscopy) na analyzátoru Isomax 4000 (Isodiagnostika, Canada) a HeliFANplus (FAN, Německo). Kumulativní výdej cPDR frakce ^{13}C jsme stanovili jako poměr podaného a vydýchaného stabilního izotopu ^{13}C , pro kvantitativní výpočet používáme hodnotu BMR (bazální metabolická rychlost), která zohledňuje i věk a pohlaví vyšetřované osoby, na rozdíl od častěji používané hodnoty BSA (body surface area), stanovené pouze z údajů výšky a váhy pacienta.

Soubor vyšetřených nemocných zahrnoval 386 nemocných se susp. chronickou pankreatitidou. Diagnóza chronické pankreatitidy (CHP) byla potvrzena zobrazovacími metodami (ERCP, CT, ultrasonografie) u 115 osob, a podrobná kategorizace nemocných s CHP byla provedena na základě morfologického a funkčního aspektu. Nemocní bez klinických projevů funkční insuficience (steatorhoea, diabetes mellitus) tvoří skupiny CHP-A a CHP-B, nemocní s diabetem nebo steatorhoeou tvoří skupiny CHP-C a CHP-D. Morfologický aspekt zahrnuje pankreatické komplikace (cysty, stenózy, drenáže, resekcční zákroky). Skupiny CHP-A a CHP-C zahrnují nemocné bez pankreatických komplikací, skupiny CHP-B a CHP-D s uvedenými komplikacemi. V souboru 184 nemocných se susp. CHP (tabulka č.1) byl výsledek obou funkčních testů, elastázy-I ve stolici a dechový test ^{13}C -MTG, porovnáván.

Tabulka 1 - Soubor 184 nemocných se susp. CHP kategorizovaných do 4 skupin s funkčním a morfologickým aspektem.

skupina	NON-CHP	CHP-A	CHP-B	CHP-C	CHP-D
počet	69	35	24	22	34
věkový průměr	44.7	50.5	48.6	56.9	51.2
muži : ženy	1 : 1	1 : 1	2 : 1	1 : 1	6 : 1

Výsledky studie

Koncentrace elastázy-1 ve stolici signifikantně klesá při progresi onemocnění. V souboru 115 nemocných s prokázanou chronickou pankreatitidou klesá průměrná hodnota se 486,4 $\mu\text{g/g}$ ve skupině CHP-A; na 309,7 $\mu\text{g/g}$ ve skupině CHP-B; 269,9 $\mu\text{g/g}$ ve skupině CHP-C a 80,2 $\mu\text{g/g}$ ve skupině CHP-D (obrázek č.2).

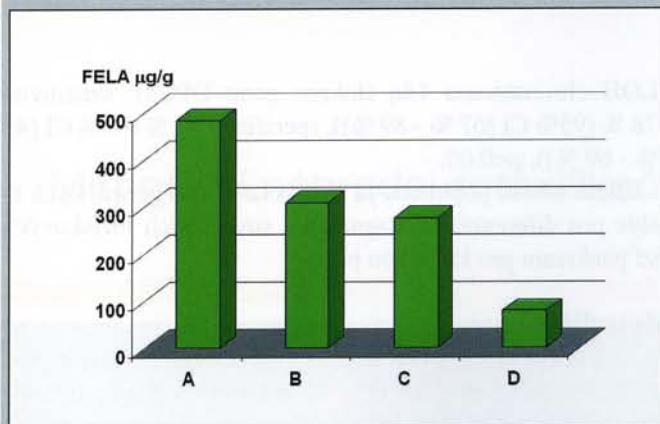
Porovnání dvou LISA testů elastázy-1 ve stolici, stanovení s monoklonální (FELA) a polyklonální (PELA) protilátkou, jsme provedli na souboru 277 vzorků. Shodný výsledek testů a hodnocení v kategoriích 0 - 100 - 200 $\mu\text{g/g}$ stolice jsme prokázali pouze u 225 z 277 testů, tj. v 81,2 %. Korelace hodnot obou testů je relativně nízká (korelační koeficient $r = 0,751$; obrázek č.3). Oba dva typy stanovení vykazují srovnatelnou falešnou negativitu. V souboru s normálními hodnotami FELA nad 200 $\mu\text{g/g}$ jsme našli 19 osob s nízkou hodnotou PELA, pod 200 $\mu\text{g/g}$; v souboru s normálními hodnotami PELA nad 200 $\mu\text{g/g}$ jsme našli 15 osob s nízkou hodnotou FELA. Falešná negativita se v obou typech stanovení týká všech kategorií CHP.

Dechový test s ^{13}C -MTG jsme provedli u 184 nemocných se susp. CHP. Hodnota kumulativního výdeje za 6 hodin (% cPDR) rovněž signifikantně klesá při progresi onemocnění, a průměrná hodnota v souboru CHP-A je 57,4 %; CHP-B je 46,4 %; CHP-C je 40,6 % a CHP-D 30,1% (obrázek č.4).

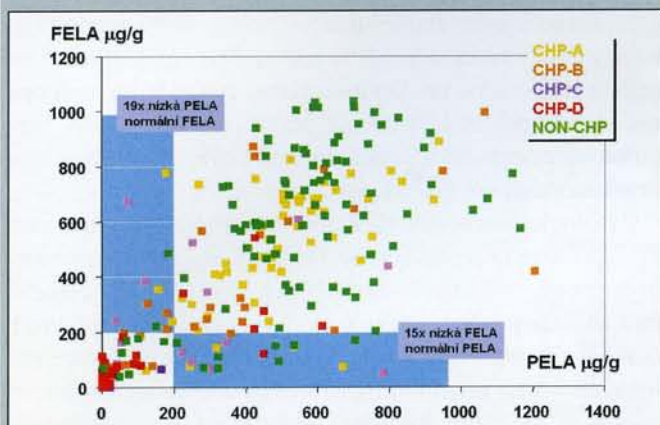
Při porovnání negativitu, resp. pozitivitu obou funkčních testů jsme prokázali významné rozdíly ve 40,1% osob skupiny CHP-B a CHP-D, s morfologickým aspektem pankreatických komplikací. Dechový test ^{13}C -MTG vykazuje normální hodnoty u 94,9% nemocných skupiny CHP-A a CHP-B, tj. bez klinických projevů funkční insuficience, bez diabetu a bez steatorhoey, přestože u 39,1% osob CHP-B je při normálním ^{13}C -MTG testu nízká hodnota elastázy-1, indikující morfologické komplikace CHP. Rozpor funkčních testů byl rovněž prokázán v souboru osob CHP-D, a to ve 38,2 % je opět normální hodnota ^{13}C -MTG a nízká hodnota elastázy-1 ve stolici.

Diskuze a závěry

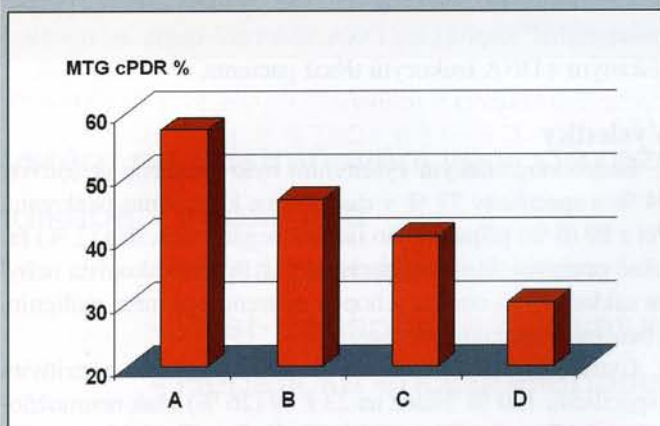
Naše čtyřleté zkušenosti potvrzují význam obou dvou testů exokrinní funkce pankreatu. Stanovení elastázy-1 ve stolici je základním screeningovým, jednoduchým testem, který lze doporučit pro dlouhodobé sledování nemocných a progresi onemocnění. Test lépe koreluje s morfologickým aspektem postižení pankreatu, než dechový test ^{13}C -MTG.



Obrázek 2 - Hodnoty elastázy -I ve stolici (vyjádřené v µg/g stolice) u chronické pankreatitidy kategorizované do 4 skupin CHP-A, CHP-B, CHP-C a CHP-D, stanoveno ELISA testem s monoklonální protilátkou.



Obrázek 3 - Hodnoty elastázy - I ve stolici (v µg/g stolice) u chronické pankreatitidy kategorizované do 4 skupin CHP-A (žlutě) CHP-B (oranžově), CHP-C (fialově) a CHP-D (červeně); kontrolní soubor bez prokázané CHP (zeleně). Hodnoty jsou stanoveny ELISA testem s monoklonální protilátkou (FELA) a polyklonální protilátkou (PELA).



Obrázek 4 - Hodnoty kumulativního výdeje (% cPDR) dechového testu s podáním ^{13}C -MTG u chronické pankreatitidy, kategorizované do 4 skupin CHP-A, CHP-B, CHP-C a CHP-D, stanoveno metodou detekce NDIRS.

^{13}C -MTG dechový test je vhodný pro kvantitativní posouzení funkční insuficience, dobře koreluje se steatorhoeou, umožňuje posouzení dynamiky trávicího procesu, jeho kinetiku a optimalizaci substituční terapie pankreatickými enzymy. Diagnostický význam jednotlivých ukazatelů ^{13}C -MTG dechového testu - cPDR, DOB_{max} , DOB_{time} , charakter křivky - je předmětem další studie.

Závěry hodnocení obou testů v souboru 184 susp. CHP prokazují rozdílnost výsledků dvou testů exokrinní funkce pankreatu ve 40,1 %, a to ve skupině CHP-B a CHP-D. Funkční testy FELA a ^{13}C -MTG proto mají odlišnou indikaci v diagnostickém algoritmu CHP.

Literatura

- 1 - Ammann RW: Diagnosis and management of chronic pancreatitis: current knowledge. *Swiss Med Wkly*, 2006, 136: 166 - 174
- 2 - Boeck WG, Adler G, Gress T: Pancreatic function tests: when to choose, what to use. *Curr Gastroenterol Rep*, 2001, 3: 95 - 100
- 3 - Dumasy V, Delhayé M, Cotton F, Deviere J: Fat malabsorption screening in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99: 1350 - 1354
- 4 - Glasbrenner B, Kahl S, Malfertheiner P: Modern diagnostics of chronic pancreatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 14: 935 - 941
- 5 - Keller J, Luyer P: Human pancreatic exocrine response to nutrients in health and disease. *Gut*, 2005, 54, Suppl 6: 1 - 28
- 6 - Kocna P: Dechové testy - moderní, neinvazivní diagnostika. *Interní medicína*, 2006, 8: 336 - 341
- 7 - Kocna P: Laboratorní diagnostika malabsorpčního syndromu. In *Gastroenterologie 2006 - Collectio novissima*, ed. Bureš J, Triton - Praha, 2006: 181 - 198
- 8 - Kocna P, Vanickova Z, Krechler T, Lukas M, Dosedel J, Kohout P: Exocrine Pancreatic Function Test - ^{13}C -Mixed Triglyceride Breath Test. *Pancreatology*, 2006, 6: 331
- 9 - Krechler T, Kocna P, Dosedel J, Vanickova Z, Svestka T, Kohout P, Bortlik M, Lukas M, Zak A: Faecal Elastase I Performance - Use in Diagnosis of Chronic Pancreatitis. *Pancreatology*, 2006, 6: 388 - 389
- 10 - Krechler T, Kocna P, Vaníčková Z, Švestka T, Lukáš M, Dosedel J, Kohout P, Žák A: Stanovení elastázy I ve stolici - využití v diagnostice chronické pankreatitidy. *Čas. Lék. čes*, 2006, 145: 480 - 483
- 11 - Miendje Y, Maisin D, Sipewa MJ, Deprez P, Buts JP, De Nayer P, Philippe M: Polyclonal versus monoclonal ELISA for the determination of fecal elastase 1: diagnostic value in cystic fibrosis and chronic pancreatic insufficiency. *Clin Lab*, 2004, 50: 419 - 424
- 12 - Molinari I, Souare K, Lamireau T, Fayon M, Lemieux C, Cassaigne A, Montaudon D: Fecal chymotrypsin and elastase-1 determination on one single stool collected at random: diagnostic value for exocrine pancreatic status. *Clin Biochem*, 2004, 37: 758 - 763.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Petr Kocna, CSc.
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky
VFN a I.LF UK v Praze
Karlovo náměstí 32, 121 11 Praha 2
E-mail: kocna@lfi.cuni.cz,
www: <http://www1.lfi.cuni.cz/~kocna/pkweb1.htm>