

# Hyperamylazémie, laboratorní a klinické aspekty

Kocna P., Zima T.

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

## SOUHRN

Laboratorní stanovení celkové aktivity  $\alpha$ -amylázy představuje téměř 2 miliony vyšetření ročně v České republice. Stanovení celkové  $\alpha$ -amylázy pro diagnostiku onemocnění pankreatu má velmi nízkou specifitu a doporučováno je proto stanovení specifických pankreatických enzymů pankreatického izoenzymu  $\alpha$ -amylázy a pankreatické lipázy. Sdělení sumarizuje laboratorní a klinické aspekty zaměřené především na hyperamylazémii.

**Klíčová slova:**  $\alpha$ -amyláza, pankreatický izoenzym, slinný izoenzym, makroamyláza, hyperamylazémie.

## SUMMARY

*Kocna P., Zima T.: Hyperamylasemia, Laboratory and Clinical Aspects*

Biochemical estimation of the total  $\alpha$ -amylase represents in the Czech Republic almost two millions of assessments per year. Estimation of the total  $\alpha$ -amylase for the diagnostics of pancreatic diseases has a very low specificity and it is therefore recommended to analyze specific pancreatic enzymes – pancreatic isoenzyme  $\alpha$ -amylase and pancreatic lipase. Paper summarizes laboratory and clinical aspects aimed namely on hyperamylasemia.

**Key words:**  $\alpha$ -amylase, pancreatic isoenzyme, salivary isoenzyme, macroamylase, hyperamylasemia. *Po.*

*Čas. Lék. čes., 2006, 145, pp. 449–452.*

## $\alpha$ -AMYLÁZA

$\alpha$ -amyláza ( $\alpha$ -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 – slinný (S-typ, S-AMS) a pankreatický (P-typ, P-AMS) izoenzym, podle jejich orgánového původu. Pankreatická  $\alpha$ -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 (1). Za fyziologických podmínek není molekula enzymu absorbována střevním povrchem a sérová hladina je nízká, odpovídající aktivitě enzymu uvolněného do cirkulace přímo ze žlázových buněk, resp. lymfatickou drenáží. Pankreas secernuje jednu izoamylázu o izoelektrickém bodu kolem 7,0, zatímco ve slinné žláze se tvoří několik izoamyláz o izoelektrických bodech 6,4 a 6,0. Kromě slinných žláz se slinná izoamyláza tvoří ve vejcovodech, slzách, mléku a potu. Molekulová hmotnost  $\alpha$ -amylázy je 55,000. Z cirkulace je  $\alpha$ -amyláza eliminována v ledvinách glomerulární filtrací, nefrektomií a renální insuficiencí zvyšuje hladinu amylázy zhruba o 50 % (2). Kompletní metabolismus amylázy není zcela objasněn, především role jaterních funkcí, při nekróze a cirhóze jater je amyláza rovněž zvýšena (3). Makroforma enzymu – makroamyláza vzniká v důsledku změny procesu v Golgiho systému 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.

## LABORATORNÍ STANOVENÍ $\alpha$ -AMYLÁZY

Laboratorně lze stanovovat koncentraci proteinu imunochemickými technikami nebo enzymovou, katalytickou aktivitu pomocí specifických substrátů (1). Při stanovení jak hmotnostní koncentrace, tak katalytické aktivity enzymu je nutno zvažovat přítomnost inhibitorů v séru a vznik makroform 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. Specifické metody existují i pro stanovení slinné  $\alpha$ -amylázy, např. ELISA s monoklonální protilátkou (4). Pro klinickou diagnostiku se stanovuje hladina  $\alpha$ -amylázy v séru, v moči a vypočítává se index clearance amylázy/kreatininu. Relativně málo používaným testem je stanovení  $\alpha$ -amylázy ve stoličce imunochemickým průkazem s protilátkou k lidské pankreatické amyláze. Test je založen na ILMA (ImmunoLuminoMetric Assay) principu s luminiscenčním měřením, markerem je akridinium ester.

## MAKROFORMA $\alpha$ -AMYLÁZY

Makroformu  $\alpha$ -amylázy lze stanovit gelovou filtrací (1), elektroforetickou, precipitací s PEG (5, 6) nebo ELISA technikou.

**Tab. 1.** Přehled příčin hyperamylazémie

<b>Onemocnění GIT – pankreatu</b>	akutní pankreatitida akutní exacerbace chronické pankreatitidy nádor pankreatu střevní obstrukce makroamylazémie biliární nebo pankreatická obstrukce a lithiáza traumatické poškození pankreatu ERCP
<b>onemocnění GIT – jiná</b>	cholecystitida střevní obstrukce perforovaný peptický vřed traumatické poškození břicha střevní záněty – 30 % případů akutní apendicitidy
<b>onemocnění slinných žláz</b>	infekční onemocnění slinných žláz – průušnice obstrukce slinných žláz traumatické poškození
<b>gynekologická onemocnění</b>	nádory ovárií, plic ektopické nebo prasklé mimoděložní těhotenství salpingitida falopianské nebo ovariální cysty endometrióza
<b>ostatní příčiny</b>	diabetická ketoacidóza nádor plic pneumonie trombóza popáleniny bulimie – zvýšení S-AMS renální insuficience a selhání – změna clearance cirhoza jater a hepatitida – snížení clearance metastatický tumor s ektopickou produkcí mírná elevace – těhotenství

S-AMS – slinný izoenzym  $\alpha$ -amylázy

**Tab. 2.** Statistika stanovení amylázy a lipázy v České republice a ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze

	2001	2002	2003	2004
Česká republika				
$\alpha$ -amyláza	1 609 667	1 548 515	1 622 520	1 673 521
$\alpha$ -amyláza pankreatická	105 168	105 868	124 629	141 237
lipáza	52 611	49 978	54 195	55 402
ÚKBLD Všeobecné fakultní nemocnice a 1.LF UK v Praze				
$\alpha$ -amyláza	7 704	5 557	5 595	5 807
$\alpha$ -amyláza pankreatická	32 990	32 015	30 866	33 666
lipáza	997	1 256	1 557	1 946

Kvantitativní stanovení poměru makroformy enzymu je nejpřesnější s použitím gelové chromatografie na Sephadexu G-100 a stanovením aktivity  $\alpha$ -amylázy v jednotlivých frakcích enzymaticky standardním postupem s pNP blokováným maltoheptaoxidem. Důležitým aspektem pro průkaz makroamylázového komplexu je nestabilita komplexu s immunoglobuliny. Při zmražení a rozmražení séra dochází k disociaci komplexů, makroamylázu je proto nutné prokazovat v čerstvě odebraném vzorku séra.

#### **HYPERAMYLAZÉMIE – INDIKACE VYŠETŘENÍ**

Zvýšená hladina celkové aktivity  $\alpha$ -amylázy – hyperamylazémie – je prokazatelná u celé řady onemocnění. Nejčastější klinickou indikací je diagnostika akutní pankreatitidy (2). Použit lze stanovení i dalších pankreatických enzymů, stanovení pankreatické izoamylázy a lipázy je nejpoužívanější jako jednoduché, rychlé, nenáročné a všeobecně dostupné metody stanovení. Hladina celkové  $\alpha$ -amylázy je spolehlivě

zvýšena ve 100 % onemocnění akutní pankreatitidou, zvýšena je však i v 80 % všech případů akutních bolestí břicha (7–9). Podstatně větší diagnostický přínos má stanovení pankreatického izoenzymu (P-typu, P-AMS), jehož hladina je rovněž zvýšena ve 100% případů akutní pankreatitidy, u akutních bolestí břicha je zvýšena jen v 10 % (10). V běžné klinické praxi se používá kritéria 5násobného zvýšení celkové amylázy, které je diagnostickým indikátorem akutní pankreatitidy.

Hyperamylazémie může mít čtyři formy, z pohledu laboratorní enzymologie (11). Zvýšení koncentrace **slinné amylázy, pankreatické amylázy, obou dvou izoforem enzymu, nebo přítomnosti makroformy amylázy**. Z metabolicko-klinického pohledu může být zvýšení koncentrace enzymu způsobeno **zvýšenou sekrecí enzymu a jeho uvolňováním** do séra, nebo **sníženou renální exkrecí enzymu**. Zcela ojediněle jsou i případy familiární hyperamylazémie (11, 12).

Zvýšení slinné izoamylázy se vedle onemocnění slinných žláz objevuje při laktátové acidóze, ruptuře mimoděložního těhotenství, salpingitidě, ovariálním cystoidu, karcinomu plic, karcinomu tlustého střeva, feochromocytomu, thymomu a myelomu. Slinná hyperamylazémie je dále běžná u mentální anorexie snad v důsledku poranění či stimulace slinných žláz při úporném zvracení. Slinná izoamyláza je zvýšena u 10 % alkoholických intoxikací.

Pankreatická  $\alpha$ -amyláza je samozřejmě zvýšena při akutní pankreatitidě, hyperamylazémie je samozřejmě prokazatelná u akutních i chronických onemocnění ledvin, u střevních zánětů ve 30 % případů akutní apendicitidy. Zvýšení hladiny  $\alpha$ -amylázy v moči u akutní pankreatitidy přetrvává déle a nastupuje později než zvýšení hladiny v séru. Normální hodnoty poměru clearance amylázy a kreatininu jsou mezi 2–4 %, při pankreatitidě stoupá index na 10 %. Zvýšený index clearance amylázy-kreatininu byl prokázán například u diabetické ketoacidózy (13), popáleninách, myelomu a u ledvinových poruch. Snížení indexu clearance je diagnosticky významné pro makroamylazémii. Amyláza je eliminována z plazmy rychleji než trypsin a lipáza a ty zase rychleji než elastáza. S odstupem několika dnů od počátku obtíží tedy může diagnózu potvrdit nejspíše elastáza (2). Pankreatická izoamyláza bývá vedle pankreatitidy zvýšená po ERCP, karcinomu pankreatu i při prosté pasáži konkrementů Vaterskou papilou do duodena. Při perforaci a infarktu střeva se amyláza dostává do oběhu patologickou reabsorpcí ze střevního lumen. Z malignit je jediným možným zdrojem pankreatické izoamylázy generalizovaný karcinom prsu.

Makroamyláza je příčinou 5–8 % případů hyperamylazémie (zvýšené hodnoty celkové sérové hladiny  $\alpha$ -amylázy) a velmi často se vyskytuje spolu s makrolipázou (14–16). Příčinou vazby  $\alpha$ -amylázy na makrokomplexy imunoglobulinů je velmi často autoimunitní onemocnění, makroamyláza je popsána například u celiakie (17, 18) a pokles hyperamylazémie při dodržování bezlepkové diety (19).

Hyperamylazémie může mít celou řadu klinických i laboratorních příčin (3, 8, 9, 13, 20, 21). Preanalytika stanovení  $\alpha$ -amylázy zdůraňuje především falešné snížení aktivity vlivem inhibitorů aktivity v lipemickém séru – hypertriglyceridémie, volbou nevhodného odběrového systému (oxalátová, nebo citrátová plazma), stabilita vzorku séra je udávána na 1 týden při pokojové teplotě. Klinické faktory vedoucí k hyperamylazémii (20) jsou uvedeny v tabulce 1.

Hladinu  $\alpha$ -amylázy může zvýšit podávání některých léčiv: léky vedoucí ke spazmu sfinkteru Oddi např. morfin, fentanyl, kodein; léky s možným vyvoláním pankreatitidy jako vedlejším nežádoucím účinkem – acetaminofen, aminosalicilová kyselina, azathioprin, chlorothiazid nebo steroidy. Laboratorní stanovení  $\alpha$ -amylázy může být ovlivněno i na analytické rovině přítomností některých léčiv a jejich metabolitů v plazmě, např. paracetamolem.

Stanovení  $\alpha$ -amylázy pro diagnostiku onemocnění pankreatu má velmi nízkou specificitu, hladina  $\alpha$ -amylázy dokonce může být zcela normální i při rozsáhlé nekróze pankreatu. V diferenciální diagnostice onemocnění slinivky břišní je doporučováno především

stanovení pankreatického izoenzymu  $\alpha$ -amylázy (P-AMS) (11) a pankreatické lipázy (22), proti běžně užívanému stanovení celkové hladiny  $\alpha$ -amylázy. Toto doporučení je preferováno ve Všeobecné fakultní nemocnici a stanovení P-AMS v laboratořích Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK představuje 81–85 % stanovení  $\alpha$ -amylázy v letech 2001–2004. Statistické údaje o provedených vyšetřeních v České republice v letech 2001–2004 (tab. 2) vykazují velmi nízké procento stanovení P-AMS (6–8 %), stanovení aktivity lipázy je využíváno minimálně a trend statistických údajů během uplynulých 5 let nevykazuje žádné pozitivní změny. Trend výkonů v laboratořích Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK naopak uvedená doporučení reflektuje a stanovení lipázy se v minulých 5 letech výrazně zvýšilo na 195 % hodnoty z roku 2001.

#### Zkratky

ELISA	– Enzyme Linked Imunosorbent Assay
ERCP	– endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie
ILMA	– ImmunoLuminoMetric Assay
pNP	– 4-nitrofenylfosfát
P-AMS	– pankreatický izoenzym $\alpha$ -amylázy
S-AMS	– slinný izoenzym $\alpha$ -amylázy

#### LITERATURA

1. **Kocna, P.:** Biochemická diagnostika v gastroenterologii. In: Kapitoly z klinické biochemie, 2. doplněné vydání, ed. Schneiderka P. a kol. Praha, Karolinum, 2004, s. 131-157.
2. **Špičák, J., Martínek, J., Kocna, P.:** Laboratorní diagnostika v gastroenterologii. In: Laboratorní diagnostika, ed. Zima, T. Praha, Galén, 2002, s. 59-79.
3. **Hashimoto, N., Haji, S., Nomura, H., Ohyanagi, H.:** Hyperamylasemia after hepatic resection. *Hepatogastroenterology*, 2003, 50, s. 1472 až 1473.
4. **Quarino, L., Dang, Q., Hartmann, J., Moynihan, N.:** An ELISA method for the identification of salivary amylase. *J. Forensic. Sci.*, 2005, 50, s. 873-876.
5. **Ventrucci, M., Cipolla, A., Middonno, M. et al.:** Macroamylase detection in serum using selective precipitation: a rapid and reliable assay. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1999, 31, s. 846-849.
6. **Lawson, G. J.:** Prevalence of macroamylasaemia using polyethylene glycol precipitation as a screening method. *Ann. Clin. Biochem.*, 2001, 38, Pt 1, s. 37-45.
7. **Ben-Horin, S., Farfel, Z., Mouallem, M.:** Gastroenteritis-associated hyperamylasemia: prevalence and clinical significance. *Arch. Intern. Med.*, 2002, 162, 6, s. 689-692.
8. **Gullo, L.:** Chronic nonpathological hyperamylasemia of pancreatic origin. *Gastroenterology*, 1996, 110, s. 1905-1908.
9. **Tositti, G., Fabris, P., Barnes, E. et al.:** Pancreatic hyperamylasemia during acute gastroenteritis: incidence and clinical relevance. *BMC Infect. Dis.*, 2001, 1, s. 18.
10. **Panteghini, M., Ceriotti, F., Pagani, F. et al.:** Recommendations for the routine use of pancreatic amylase measurement instead of total amylase for the diagnosis and monitoring of pancreatic pathology. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2002, 40, s. 97-100.
11. **Koda, Y. K., Vidolin, E.:** Familial hyperamylasemia. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Sao Paulo*, 2002, 57, s. 77-82.
12. **Cuckow, P. M., Foo, A. Y., Jamal, A., Stringer, M. D.:** Familial hyperamylasaemia. *Gut.*, 1997, 40, s. 689-690.
13. **Yadav, D., Nair, S., Norkus, E. P., Pitchumoni, C. S.:** Nonspecific hyperamylasemia and hyperlipasemia in diabetic ketoacidosis: incidence and correlation with biochemical abnormalities. *Am. J. Gastroenterol.*, 2000, 95, s. 3123-3128.
14. **Morteale, K. J., Wiesner, W., Zou, K. H. et al.:** Asymptomatic nonspecific serum hyperamylasemia and hyperlipasemia: spectrum of MRCP findings and clinical implications. *Abdom. Imaging.*, 2004, 29, s. 109-114.

15. **Goto, H., Wakui, H., Komatsuda, A. et al.:** Simultaneous macroamylasemia and macrolipasemia in a patient with systemic lupus erythematosus in remission. *Intern. Med.*, 2000, 39, s. 1115-1118.
16. **Yamashiro, A., Oita, T., Sakizono, K. et al.:** Simultaneous presence of macroamylase and macrolipase in a patient. *Rinsho Byori*. 1997, 45, s. 391-394.
17. **Bermejo, J. F., Carbone, J., Rodriguez, J. J. et al.:** Macroamylasemia, IgA hypergammaglobulinaemia and autoimmunity in a patient with Down syndrome and coeliac disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2003, 38, 4, s. 445-447.
18. **Rabsztyń, A., Green, P. H., Berti, I. et al.:** Macroamylasemia in patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol.*, 2001, 96, 4, s. 1096-1100.
19. **Deprettere, A. J., Eykens, A., Van Hoof, V.:** Disappearance of macroamylasemia in a celiac patient after treatment with a gluten-free diet. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2001, 33, s. 346-348.
20. **Frulloni, L., Patrizi, F., Bernardoni, L., Cavallini, G.:** Pancreatic Hyperenzymemia: Clinical Significance and Diagnostic Approach. *JOP. J. Pancreas*, 2005, 6, s. 536-551
21. **Wan, S., Arifi, A. A., Chan, C. S. et al.:** Is hyperamylasemia after cardiac surgery due to cardiopulmonary bypass? *Asian Cardiovasc. Thorac. Ann.*, 2002, 10, s. 115-118.
22. **Smith, R. C., Southwell-Keely, J., Chesher, D.:** Should serum pancreatic lipase replace serum amylase as a biomarker of acute pancreatitis? *ANZ J. Surg.*, 2005, 75, s. 399-404.

## Hyponatrémie u běžců Bostonského maratónu

Hyponatrémie je významná příčina úmrtí či život ohrožujících stavů u maratónských běžců. Studie z Harvard Medical School, USA realizovala studii zahrnující 766 běžců. Z toho 64 % (488 běžců) poskytlo krevní vzorky po dokončení závodu. U 13 % běžců se rozvinula hyponatrémie (sérová koncentrace natria  $\leq 135$  mmol/l), 0,6 % měla dokonce kritickou hyponatremii (koncentrace natria  $\leq 120$  mmol/l). Podle jedno rozměrné analýzy byla hyponatrémie spojena s podstatným vzrůstem hmotnosti, spotřebou více než 3 litrů tekutin během závodu, spotřebou tekutin pro každou míli závodu, dobou účasti v závodu  $\geq 4$  hodiny, mužským pohlavím a nízkým body mass indexem. Podle mnohorozměrné

analýzy byla hyponatrémie spojena s přírůstkem na tělesné hmotnosti (odds ratio 4,2 na 95% intervalu spolehlivosti 2,2–8,2), dobou závodu  $>4$  hodiny a extrémní v body mass indexu.

Nejsilnějším prediktorem hyponatrémie byl významný přírůstek v tělesné hmotnosti během závodu, což bylo podmíněno excesivním příjmem tekutin. Je zajímavé, že složení přijímané tekutiny nemělo na hyponatremii významný vliv.

Uvedená pozorování znamenají, že hyponatrémie a zejména závažná hyponatrémie mohou být závažnějším problémem, než by se zdálo. Například bostonského maratónu se zúčastnilo 15 000 závodníků. Lze odhadovat, že asi u 1900 závodníků se objevila hyponatrémie a u 90 závodníků se vyvinula těžká hyponatrémie. Je zajímavé, že nejtěžší stupně hyponatrémie byly

pozorovány u maratónců pocházejících ze Spojených států amerických, zejména u těch běžců, kteří nepatřili k elitním sportovcům. U nich byl také zaznamenán největší váhový přírůstek. Není jasné, proč k hyponatremii inklinují osoby s nízkými a naopak vysokými hodnotami body mass indexu. Jedním ze způsobů, jak snížit riziko hyponatrémie, je vážení běžců před začátkem tréninku a po tréninkové dávce s cílem optimalizovat strategii hydratace.

### Literatura:

**Almond, C. S. D., Shin, A. Y., Fortescue, E. B., Mannix, R. C.:** Hyponatremia among Runners in the Boston Marathon. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352, s. 1550-1556.

O. Louthan