

Laboratorní diagnostika exokrinní funkce pankreatu

Kocna P.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1.LF UK - Laboratoř gastroenterologie

SOUHRN

Klinický význam stanovení exokrinní funkce pankreatu spočívá především v diagnostice exokrinní pankreatické nedostatečnosti (PEI) a vztahu k chronické pankreatitidě (CHP). Tento přehled reprezentuje široké spektrum funkcí exokrinního pankreatu, přímých (intubačních nebo endoskopických), nepřímých - perorálních testů, analýzy stolice (stanovení tuků nebo pankreatických enzymů), dechových testů i nutričních markerů v plasmě, které lze použít k diagnostice PEI a CHP. Volba vhodného testu musí být přizpůsobena klinickému scénáři. V přehledu jsou vyhodnoceny a popsány jednotlivé funkční testy a trendy jejich používání v rutinní klinické praxi. Součástí článku jsou i aktuální mezinárodní doporučení a vlastní zkušenosti gastroenterologické laboratoře.

Klíčová slova: Exokrinní pankreas, Funkční testy, Chronická pankreatitida, Exokrinní pankreatická nedostatečnost, Klinická doporučení.

SUMMARY

Kocna P.: Laboratory diagnostics of exocrine function of the pancreas

The clinical significance of the determination of exocrine pancreatic function lies primarily in the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency (PEI) and its relationship to chronic pancreatitis (CHP). This review represents a wide range of exocrine pancreatic functions, direct (intubation or endoscopic), indirect - oral tests, stool analysis (fat or pancreatic enzymes), breath tests and plasma nutrient markers that can be used to diagnose PEI and CHP. The choice of an appropriate test must be adapted to the clinical scenario. This overview evaluates and describes the individual functional tests and trends in their use in routine clinical practice. The article also includes current international recommendations and the gastroenterological laboratory's own experience.

Keywords: Exocrine pancreas, Functional tests, Chronic pancreatitis, Exocrine pancreatic insufficiency, Clinical guidelines.

Sekrece exokrinního pankreatu je nezbytná pro trávení živin a je regulována komplexními neurohormonálními procesy. Sekretinem stimulované buňky pankreatických vývodů jsou zdrojem sekrece hydrogenuhličitanu (bikarbonátu) a exprese karboanhydrázy II. typu, cholecystokininem stimulované acinární buňky jsou zdrojem pankreatických enzymů. Pankreatické enzymy jsou secernovány v proaktivní formě a aktivovány jsou trypsinovou kaskádou při vstupu do duodena. Pankreas patří mezi metabolicky vysoce aktivní orgány s denní sekrecí 1500 mL pankreatické šťávy obsahující 5 až 10 g/L proteinů.

Klinický význam stanovení exokrinní funkce pankreatu spočívá především v diagnostice exokrinní pankreatické nedostatečnosti - PEI (Pancreatic exocrine insufficiency), jejímž důvodem může být jednak snížení funkčního parenchymu nebo snížení endogenní sekrece při zachování funkčního parenchymu [1] (Tabulka 1).

Klinická symptomatologie PEI je sumarizována na obr. 1. Laboratorní potvrzení PEI lze použít v diferenciální diagnostice chronické pankreatitidy, která je nejčastějším důvodem vzniku PEI. Evropská pracovní skupina HaPanEU (Harmonizing diagnosis and treatment of chronic pancreatitis across Europe) vypracovala podrobné doporučení [2] zahrnující i metody stanovení exokrinní funkce pankreatu a jejich diagnostický význam (Tabulka 2). V posledních letech bylo publikováno několik doporučení pro diagnostiku PEI [3], která diskutují výhody a nevýhody diagnostických testů (Tabulka 3). Problematika funkčních testů pankreatu

je řešena již mnoho let a žádný specifický test na PEI schválen a doporučen jednoznačně není [4].

Přehled metodik pro vyšetření zevně sekretorické funkce pankreatu

Laboratorní diagnostika nabízí celou řadu technik pro vyšetření zevně sekretorické funkce pankreatu (Tabulka 4). Přímé funkční testy nejlépe vyhodnotí sekreční odpověď pankreatické tkáně na přímou, intravenózně podanou, hormonální stimulaci, vyžadují gastroduodenální intubaci pro sběr pankreatické šťávy a množství sekrece duodenální šťávy, enzymů a hydrogenuhličitanu musí být kvantifikováno před a po stimulaci pankreatu. Přímé testy jsou velmi náročné, invazivní, vyžadují vysoce kvalifikovaný personál a lze je proto provádět pouze ve specializovaných centrech. Nepřímé funkční testy reagují na komplexní digestivní proces, nepřímou stimulaci testovacím pokrmem, jsou neinvazivní, snadno použitelné v klinické praxi a lze je indikovat nejen pro podporu diagnostiky chronické pankreatitidy, ale také pro monitorování substituční terapie. Třetím typem jsou testy bez jakékoliv stimulace, specifické pouze pro posouzení sekreční kapacity pankreatu [5]. Spektrum laboratorních metodik, používaných pro stanovení exokrinní funkce pankreatu, se během posledních 40 let výrazně posunulo. Podrobnou analýzu téměř 1000 publikací za 35 let zpracoval Boeck v roce 2001 [6]. Aplikace přímých testů (Lundh nebo sekretinový) klesla

Table 1. Causes of exocrine pancreatic insufficiency (PEI) in reduction of functional parenchyma or reduction of endogenous secretion while maintaining functional parenchyma [1].

| Decreased functional parenchyma |
|---|
| Chronic pancreatitis |
| Cystic fibrosis |
| Tumors of the pancreas |
| Surgical resection of the pancreas |
| Decreased secretion while maintaining a functional parenchyma |
| Pancreatic duct obstruction |
| Reduction of endogenous stimulation (celiac disease, diabetes, Crohn's disease) |
| Intraluminal inactivation (Zollinger-Ellison syndrome) |
| Gastric resection |
| Short bowel syndrome |

Table 2. Conclusions and recommendations of the European Working Group - Harmonizing diagnosis and treatment of chronic pancreatitis across Europe [2] concerning exocrine pancreatic function tests - questions, statements and comments.

| Question 3-7: Is a pancreatic function test required for the diagnosis of CP? |
|--|
| <p>Statement 3-7. A function test is required for the diagnosis of CP.</p> <p>Comments. The morphological grading systems have pitfalls regarding both sensitivity and specificity, and it has been shown that either morphological or functional impairment can be the only sign of histologically proven CP. Thus, a diagnosis of CP depends on a combination of clinical, histological, imaging and functional criteria. Proof of impaired exocrine function using function testing is particularly required for diagnosis in CP patients with inconclusive morphological findings. Moreover, several diagnostic and classification systems take exocrine function into account. However, these are more important for clinical studies.</p> |
| <i>Grade 2B, strong agreement</i> |
| Question 3-8: Should a pancreatic function test be performed at the time of diagnosis? |
| <p>Statement 3-8. Every patient with a new diagnosis of CP should be screened for PEI.</p> <p>Comments. The recommendation is based on the following aspects: as explained above, the initial pancreatic function test may provide a basis for the diagnosis of CP in a subset of patients. Moreover, the detection and treatment of exocrine failure has implications for patient outcome and follow-up. However, exocrine failure may be present even when morphological findings are absent or minimal so that morphological investigations alone do not allow for the assessment of exocrine function. In addition, even with unequivocal morphological findings of CP, clinical symptoms of exocrine failure are not always evident at the time of diagnosis and a lack of symptoms does not allow for the reliable exclusion of exocrine insufficiency, even if it is severe and associated with steatorrhea. By contrast, all available function tests detect these severe forms of the disease.</p> |
| <i>Grade 1A, strong agreement</i> |
| Question 3-6: Which test is clinically indicated for diagnosing exocrine pancreatic insufficiency? |
| <p>Statement 3-6. In a clinical setting, a non-invasive pancreatic function test (PFT) should be performed. The FE-1 test is feasible and widely available and is therefore most frequently used in this setting, while the ¹³C mixed triglyceride breath test (¹³C-MTG-BT) offers an alternative. The s-MRCP test may also be used as an indicator of PEI but provides only semiquantitative data.</p> <p>Comments. FE-1 is a very simple test for the indirect and non-invasive evaluation of pancreatic secretion. This test is widely available and only requires a small stool sample for analysis. It is widely accepted that the lower the FE-1 concentration, the higher the probability of PEI. However, guidelines agree that the FE-1 test is not capable of excluding mild to moderate PEI, and there is no consensus regarding the cut-off for PEI in patients with CP: Very low FE-1 values are most probably associated with PEI, whereas high values (>500 mg/g) allow the clinician to exclude that complication. The probability of false positive results due to stool dilution should be considered in patients with diarrhoea. Finally, the more specific monoclonal FE-1 test (rather than the polyclonal FE-1 test) is most appropriate for use in clinical practice.</p> |
| <i>Grade 1B, agreement</i> |

z 60 % na 15 %, dnes nabízená varianta (elastáza ve stolici a ¹³C-dechový test) představovala v roce 2000 25 % studií a kvantitativní analýza tuků ve stolici (CFA) byla, jest a zůstává stále významným testem používaným ve 20-30 % publikací (obr. 2).

Přímé funkční testy exokrinního pankreatu

Přímé funkční testy jsou postaveny na stimulaci pankreatu, intubaci duodena a analýze pankreatic-

Table 3. Guidelines/expert consensus for the management of pancreatic exocrine insufficiency (PEI) published worldwide [3].

| Canada - 2018 | |
|--|--|
| Guidance for primary care doctors | Guidance for primary care doctors If predisposing condition with increased risk of developing PEI; assess symptoms, consider clinical history and measure nutritional markers and fat-soluble vitamins Measure Faecal Elastase (FE-1) Refer to gastroenterologist if abnormal test results or ongoing symptoms If a delay for specialist care, consider: Trialling PERT (Pancreatic Enzyme Replacement Therapy) Computed Topography (CT) scan |
| Spain - 2013 | |
| Expert consensus - accuracy of diagnostic tests. | Does not specify which test to use. In order of accuracy: Coefficient of fat absorption (CFA) is gold-standard (accuracy 100%), Breath test (¹³ C-mixed triglyceride) 90% specificity and sensitivity, FE-1 and nutritional markers have similar accuracy |
| Australia - 2015 | |
| Guidelines | No test required if PEI highly likely (head of pancreas cancer, total pancreatectomy) If possible PEI, consider: Structural imaging Measure FE-1 to screen and exclude for PEI Blood test of nutritional markers may suggest PEI |
| Romania - 2015 | |
| Guidelines | Symptoms alone cannot verify/exclude PEI If clinical suspicion of PEI, perform a pancreatic function test Secretin test is not appropriate for PEI Measure probability of PEI using FE-1 ¹³ C-mixed triglyceride breath test & CFA are useful to diagnose PEI |

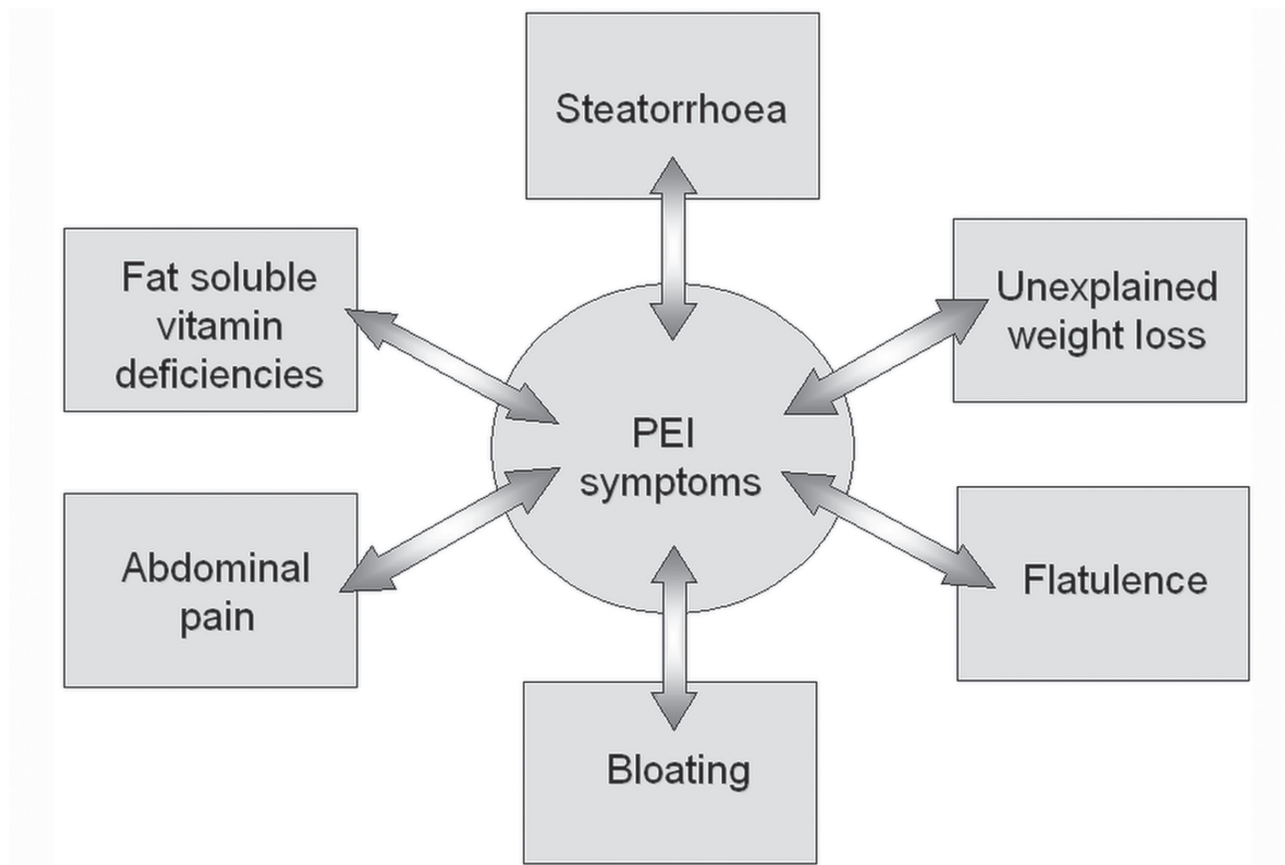


Fig. 1: Clinical symptomatology of manifestations of exocrine pancreatic insufficiency (PEI) - modified from [3]

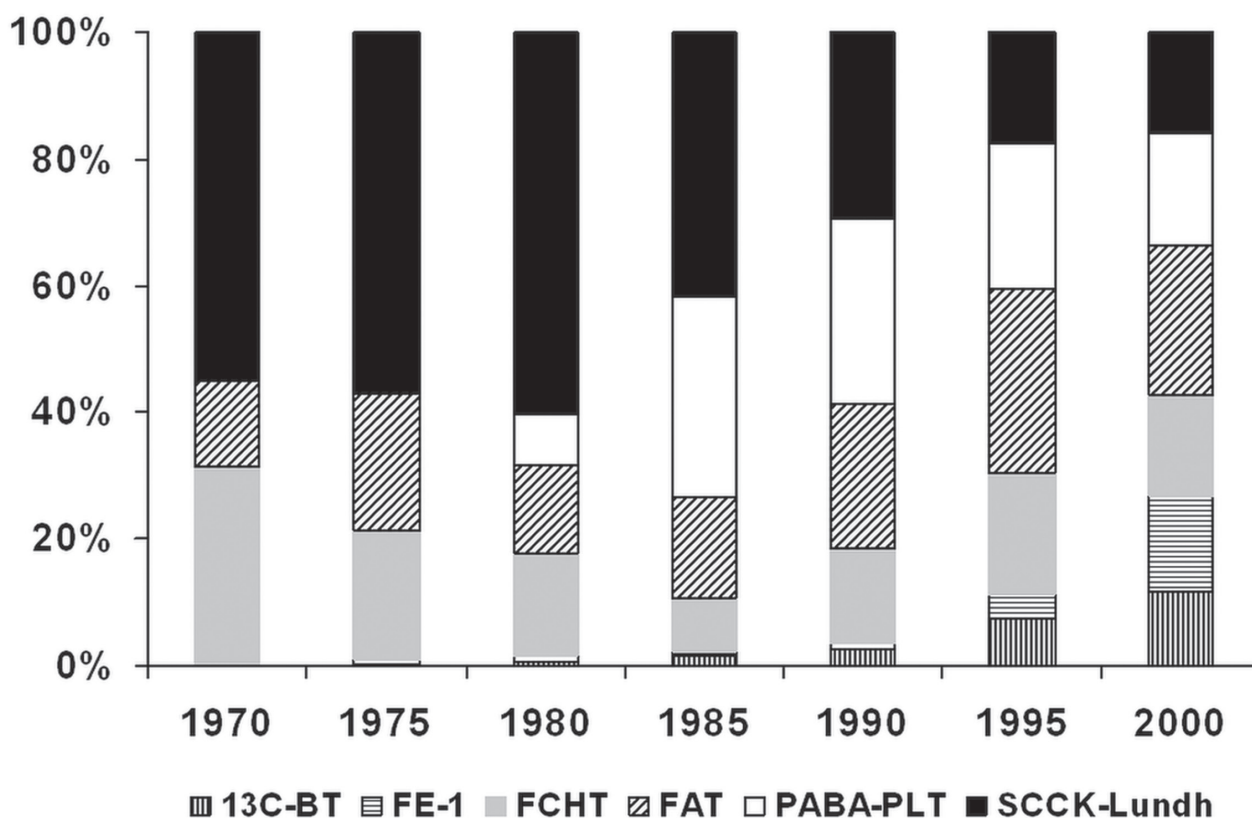


Fig. 2: Relative representation of individual tests of pancreatic exocrine function in clinical studies in the period 1970 - 2000 (according to the Boeck [6]). Stable carbon isotope (^{13}C -BT) breath tests, faecal elastase-1 (FE-1), faecal chymotrypsin (FCHT), faecal fat determination (FAT), oral indirect tests with Bz-Tyr-PABA or pancreolauryl test (PABA) -PLT, direct functional tests with secretin or Lundh (SCCK-Lundh).

Table 4. Functional tests of exocrine pancreas - direct, indirect, determination of analytes in stool, oral functional tests, determination of plasma markers.

| |
|---|
| Direct functional tests |
| Secretin test |
| Secretin-pancreozymin test |
| Secretin-caerulein test |
| Lundh's test |
| Endoscopic, X-ray and US secretin tests |
| Indirect functional tests |
| Determination of analytes in stool |
| Determination of fat in stool |
| Acidic steatocrit |
| Quantitative analysis of fats in stool |
| Chymotrypsin in stool |
| Elastase-1 in stool |
| Oral functional tests |
| BT-PABA test - Bentriomide |
| AcTyr-PABA test - ALTAB |
| Pancreolauryl test |
| Dual-labeled Schilling test |
| ^{13}C - breath tests |
| Determination of plasma markers |
| Pancreatic polypeptide assay |
| Amino acid consumption test |

kých enzymů v duodenálním obsahu před a po stimulaci. Hodnotí se tak funkční odezva pankreatu na jeho stimulaci. Původní práce Dreilinga [7] vyžadovala zavedení 26 Fr (jednotka french (Fr) = 0,33 mm) sondy s dvojitým lumen, gastrickým a duodenálním portem. Lundhův test [8] hodnotil pankreatickou funkci aktivitou trypsinu po stimulaci kukuřičným olejem. Přímé funkční testy se postupně zdokonalovaly, stimulace zahrnovala intravenózní podání sekretinu, sekretinu - caeruleinu nebo sekretinu a pankreozyminu (cholecystokininu), a rozvojem zobrazovacích metod vznikaly sekretin stimulované MRI [9], MRCP [10], ultrasonografické [11] a endoskopické funkční testy - ePFT (Endoscopic Pancreatic Function Test) [12].

Sekretin-cholecystokininový (sekretin-CCK) test

Sekretin-CCK test poskytuje ze všech dostupných testů nejpřesnější informace o sekrečních poměrech pankreatu, a je stále uváděn jako zlatý standard funkční diagnostiky pankreatu. Jako jediný umožňuje hodnocení sekrece hydrogenuhličitanu, který je zcela zásadním faktorem pro aktivitu pankreatických enzymů. Normální hodnoty objemu sekrece stimulované sekretinem jsou 165-536 mL/hod, koncentrace HCO_3^- 9,8-39,7 mmol/hod. Na našem pracovišti jsme sekretin-pankreozyminový test prováděli před 40 lety rutinně, několik pacientů každý měsíc. Sekretin-CCK test je náročným pro pacienta, laboratorní analytiku i ekonomiku. Pod RTG kontrolou se zavádí žaludeční sonda k zamezení kontaminace duodenálního obsahu a následně další, duodenální sonda. Při dvoustupňové infuzní stimulaci je podán cholecystokinin (1 IU/kg váhy) a po 20 minutách sekretin (1 IU/kg váhy). Analýza duodenálního obsahu zahrnovala stanovení pH, ikterický index, koncentraci hydrogenuhličitanu manometricky na VanSyke [13] přístroji a aktivity α -amylázy, lipázy a trypsinu běžnými enzymatickými metodami.

Endoskopické přímé funkční testy exokrinního pankreatu

V současné době jsou v klinické praxi nabízeny endoskopické, RTG a US metody po stimulaci sekretinem nebo cholecystokininem s analýzou hydrogenuhličitanu a pankreatických enzymů na biochemických analyzátoch. Endoskopický sekretinový test (ePFT) trvá pouze 45 minut a spolehlivost testu při koncentraci hydrogenuhličitanu 80 mmol/l stanovené na automatickém spektrofotometru detekuje pankreatickou exokrinní nedostatečnost (PEI) se senzitivitou 97 % a specifivitou 92 % [14]. Endoskopickou variantou sekretinového testu je také metoda sMRCP (Secretin-stimulate MRCP - Magnetic Resonance Cholangio Pancreatography). Měření sekrečního objemu při sMRCP poskytuje jednoduchou kvantitativní metodu pro exokrinní funkci pankreatu. Podle doporučení pracovní skupiny HaPanEU lze test s-MRCP použít jako indikátor PEI, ale posky-

tuje pouze semikvantitativní údaje [2]. Sekreční objem - plnění duodena lze hodnotit také analýzou obrazu při sekretin stimulovaném ultrazvukovém vyšetření [15].

Nepřímé funkční testy exokrinního pankreatu

Nepřímé funkční testy zahrnují stanovení analytů ve stolici a perorální funkční testy, které na rozdíl od sekretinového testu nevyžadují duodenální intubaci a jsou neinvazivní. Jejich podstatou je štěpení substrátu specifického pro některý z pankreatických enzymů, přičemž se odštěpený marker stanovuje v moči, séru nebo ve vydechaném vzduchu. Součástí vyšetření je perorální (nepřímá) stimulace pankreatické a biliární sekrece podáním modifikovaného Lundhova pokrmu.

Perorální funkční testy se začaly používat v 80. letech. PABA test s N-benzoyl-L-tyrosyl-4-aminobenzoovou kyselinou popsal Imondi [16], analogické vyšetření s N-acetyl-L-tyrosyl-4-aminobenzoovou kyselinou bylo vyvinuto na našem pracovišti [17]. Komerční Spofagnost-Pankenzen (ALTAB) test vyráběla Spofa [18] a další variantou byl test s fluoresceindilaurátem (Pankreolauryl). Snahou o zjednodušení a eliminaci sběru moče byly studie analyzující markery v séru [19]. Kombinací analýzy PABA s dalším markerem, kyselinou 4-aminosalicylovou (PAS), byla zvýšena specifická testu ze 76 na 89 % [20].

Schillingův test - hodnocení poměru vylučování kobalaminu pro R protein-kobalamin / IF-kobalamin dobře koreloval s maximálními koncentracemi hydrogenuhličitanu přímého funkčního testu a citlivost dvojitě značeného Schillingova testu byla vyšší než BT-PABA [21]. Komerční testy (Bentiromid, Spofagnost-Pankenzen, Pankreolauryl) již k dispozici nejsou, Schillingův test se značeným kobalaminem se již neprovádí a dostupnou variantou jsou pouze dechové testy se stabilním izotopem uhlíku ^{13}C . Substrátem pro dechové testy je nejčastěji používán ^{13}C -mixed triglycerid nebo ^{13}C -hiolein, variantou BT-PABA byl ^{13}C značený dipeptid Benzoyl-L-tyrosyl-[1- ^{13}C] alanine - Bz-Tyr-Ala [22]. Zásadním omezením orálních testů je skutečnost, že k relevantním a reprodukovatelným závěrům je nutné zachování anatomické a funkční integrity trávicího traktu. Narušení jakékoliv součásti trávení a metabolismu - žaludeční sekrece, střevní absorpce, jaterní a biliární funkce, renální insuficience nebo plicní ventilace u dechových testů, může způsobit abnormální výsledek testu, který při chybné laboratorní a klinické interpretaci diagnostický přínos těchto vyšetřovacích metod snižuje.

Spofagnost-Pankenzen test (ALTAB)

Funkční vyšetření s chymotrypsinovým substrátem 4-N-acetyl-L-tyrosyl-amino-benzoovou kyselinou (Ac-Tyr-PABA) bylo provedeno perorální aplikací 2 g substrátu a stimulací modifikovaným Lundhovým pokrmem (hydrolyzovaný kasein s olivovým olejem). V tenkém

střevě se chymotrypsinem odštěpí 4-aminobenzoová kyselina, a její množství stanovené v šestihodinovém vzorku moči je indikátorem zevní funkce pankreatu. Normální hodnoty jsou nad 30,7 % vyloučené PABA, pomocnou hodnotou je hladina PABA v séru po třech hodinách s kritériem 25 $\mu\text{mol/L}$. Srovnání Bz-Tyr-PABA a Ac-Tyr-PABA prokázalo, že náš - český ALTAB je efektivnější variantou než benzoylový substrát [16]. ALTAB test bylo možno použít pro optimalizaci substituční terapie (PERT - Pancreatic Enzyme Replacement Therapy), včetně kombinace s antacidy [23]. ALTAB testem jsme rovněž prokázali vzájemný vztah mezi poruchou vnitřní a zevní sekrece pankreatu u nemocných s chronickou pankreatitidou a diabetem [24].

Dechový test s ^{13}C -mixed triglyceridem (^{13}C -MTG)

Principem ^{13}C -MTG testu je štěpení substrátu pankreatickou lipázou. Perorálně podaným substrátem je triglycerid s ^{13}C -označeným oktanoátem (C8) v poloze 2 a stearátem (C18) v poloze 1 a 3. Oktanová kyselina - masná kyselina se střední délkou řetězce - nepodléhá reesterifikaci v enterocytech, vstřebává se portálním oběhem, v játrech dochází k její betaoxidaci a koncentrace $^{13}\text{CO}_2$ ve vydechaném vzduchu je indikátorem exokrinní funkce pankreatu. Specifita dechového testu je závislá na struktuře podaného substrátu a MTG má řadu výhod oproti ostatním triacylglycerolům [25] - nevyskytuje se v přirozené dietě, limitujícím krokem je hydrolyza dvou stearylových skupin a v běžné dietě je jen malé množství oktanoátu, takže nedochází k mísení s nezačleneným substrátem. Substrát MTG je hydrolyzován rovněž lipázou podávanou při substituční terapii PERT a dechové testy lze použít k monitorování úspěšnosti a optimalizaci substituční léčby [26].

^{13}C -MTG test provádíme po nepřímé stimulaci pankreatu testačním pokrmem, který byl navržen tak, aby vyhovoval širokému spektru nemocných s gastroenterologickou problematikou, případnou celiakií nebo nesnášenlivostí laktózy. Před provedením ^{13}C -MTG testu je nutné nejméně 24hodinové vysazení pankreatické substituce. Podáváme křehký kukuřičný chléb - bezlepkový 100 g s 20 g tuku (nejlépe rostlinného margarínu) do kterého je přidáno 250 mg ^{13}C -značeného triglyceridu. Vzorky vydechaného vzduchu odebíráme nalačno a pak po dobu šesti hodin ve 30minutových nebo 60minutových intervalech. Vyhodnocením je kumulativní výdej za 6 hodin (cPDR - cumulative percent dose recovered), který v procentech k podanému substrátu vyjadřuje míru pankreatické insuficience. Hranicí normy je uváděna hodnota 22 %, při výpočtu kumulativního výdeje pomocí BSA (povrch těla vypočítaný pomocí výšky a váhy pacienta). Přesnější hodnoty lze vypočítat pomocí BMR (basální metabolická rychlost), zohledňující i pohlaví a věk pacienta, hranice normy cPDR při výpočtu pomocí BMR je 30 % [27, 28]. ^{13}C -MTG dechový test zcela nahrazuje dnes již nedostupný ALTAB test se srovnatelnými kritérii - nepřímá stimulace, šesti hodinový sběr markeru a vyhodnocením kritériem výdeje nad 30 %.

Stanovení tuků ve stolici

Steatorhoea je nejprůkaznějším projevem malabsorpce a malabsorpce tuků je nejčastěji způsobena onemocněním pankreatu, cystickou fibrózou a chronickou pankreatitidou. Kvantitativní stanovení tuku ve stolici - CFA (Coefficient of Fat Absorption) zůstává v některých zemích stále zlatým standardem v diagnostice PEI. Laboratorní analytika nabízí několik metod pro testování tuku ve stolici, od screeningového barvení stolice Sudan-III barvivem, přes semikvantitativní kyselý steatokrit po kvantitativní stanovení tuku v 72hodinovém sběru stolice.

Průkaz tuků Sudan-III barvením

se provádí po acidifikaci kyselinou octovou a zahřátí vzorku stolice, vyhodnocuje se počtem obarvených tukových kapek v zorném poli. Poslední modifikace metody [29] vykazala při srovnání s chemickou analýzou stolice citlivost 94 % a specifitu 95 %. Tato metoda může rozlišovat mezi neutrálním a štěpeným tukem. Intaktní triglyceridy prokázané před acidifikací jsou převládajícím tukem u pacientů s PEI, zatímco u pacientů s normální funkcí pankreatu a abnormální sliznicí tenkého střeva prokazujeme ve stolici jednoduché masné kyseliny [30].

Kyselý steatokrit

je semikvantitativní analýzou tuků ve stolici. Homogenizovaný vzorek stolice je acidifikován kyselinou chloristou a kapilára se vzorkem je centrifugována při 13 000 otáčkách/min [31]. Kyselý steatokrit je vyjádřen poměrem masné a pevné vrstvy. Srovnání kyselého steatokritu s kritériem normy < 10% a 72hodinovou kvantitativní analýzou tuku prokázalo citlivost 100 % a specifitu 95 % [32]. Matematicky lze hodnotu steatokritu přepočítat na hodnotu CFA a kritérium analýzy tuků za 24 hodin bylo porovnáno se stanovením elastázy-1 pro posuzování stupně chronické pankreatitidy s klasifikací M-ANNHEIM [33].

Kvantitativní analýza tuků ve stolici v 72hodinovém sběru - CFA

byla doporučena jako zlatý standard diagnostiky PEI a dosud je toto vyšetření považováno za nejpřesnější metodu, i když je rutinně prováděno minimálně, vzhledem k procesu sběru, uchování a zpracování 600 - 1200 g stolice. Metoda zahrnuje definovaný příjem tuků 100 g po dobu tří dnů s následným sběrem stolice další tři dny [34, 35]. Chemickou analýzu tuků popsal van de Kamer [36] a metoda byla během 50 let modifikována, např. stanovení tuků aplikací záření blízké infračervené části spektra [37]. Normální hodnotou testu je průkaz < 7 g tuku za 24 hodin. Velkoobjemový průjem může při neporušenému systému absorpce lipidů způsobit zvý-

šené hodnotu 7 až 14 g/den), takže mírně zvýšené hladiny je třeba přiměřeně interpretovat [38]. CFA je v současné době jediným testem pro indikaci a monitorování PERT v klinických studiích, který akceptuje Americká správa potravin a léčiv (FDA) a Evropská agentura pro léčivé přípravky (EMA) [39].

Stanovení pankreatických enzymů ve stolici

Stanovení pankreatických enzymů ve vzorku stolice je nejjednodušším testem jak pro nemocného, tak pro laboratorní stanovení, a tyto testy patří proto k nejlevnějším, základním i screeningovým testům. Nejedná se o funkční diagnostiku, test nezahrnuje žádnou stimulaci pankreatu, výsledek testu není porovnáván s bazální hodnotou nalačno, a testy nelze použít pro monitorování substituční léčby.

Dříve používaný chromogenní test stanovení chymotrypsinu ve stolici je nahrazen stanovením pankreatické elastázy imunochemickou detekcí.

Stanovení trypsinu a chymotrypsinu ve stolici

Chymotrypsin je serinovou proteázou s velmi podobnou molekulární strukturou jako trypsin a elastáza. Secernuje se jako inaktivní proenzym – chymotrypsinogen, který je aktivován trypsinem. Funkční diagnostika pankreatu stanovovala aktivitu trypsinu v duodenálním obsahu [8]. Ve stolici se stanovoval titrační metodou trypsin s p-toluen sulphonyl-1-arginin methyl esterem (TAME) a chymotrypsin s N-acetyl-L-tyrosin ethyl esterem (ATEE) [40]. Metody byly později modifikovány pro fotometrické stanovení. Současné testy jsou založeny na jednoduché reakci s chromogenním substrátem, N-sukcinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-4-nitroanilidem [41]. Referenční hodnoty jsou > 140 nkat/g, hraniční pásmo je v rozmezí 70 -140 nkat/g, patologické hodnoty < 70 nkat/g. Stanovení chymotrypsinu ve stolici touto chromogenní metodou je jednoduché, specifická a senzitivita stanovení je však relativně nízká – pro těžké poruchy pankreatické funkce 72 - 95 %, pro lehké a střední formy jen 41 - 64 % [42]. Výsledek testu může být falešně pozitivní vlivem mikrobiální flóry tlustého střeva, falešná negativita může být způsobena intraluminální degradací molekuly chymotrypsinu nebo zředěním (obsahem vody) při průjmu. Stanovení 72 hodinového výdeje chymotrypsinu ve stolici je laboratorně výrazně jednodušší než kvantitativní analýza tuků ve stolici v diagnostice steatorhoey [43].

Stanovení pankreatické elastázy 1 ve stolici

Lidská pankreatická elastáza 1 je syntetizována acinárními buňkami pankreatu, enzym je secernován pankreatickou šťávou do duodena a během střev-

ní pasáže není degradována proteinová sekvence zvolená pro imunochemickou detekci. Aktivita lidské pankreatické elastázy-1 ve vzorcích stolice odráží míru exokrinní pankreatické funkce a stanovení pankreatické elastázy 1 ve stolici (FE-1) bylo zvažováno jako zlatý standard pro detekci PEI [44]. Nejnovější aplikace doporučují stanovení pankreatické elastázy-1 v duodenální šťávě při stimulovaném funkčním testu [45]. Laboratorní metody jsou založené na imunochemické detekci se specifickou protilátkou k lidské pankreatické elastáze. Metoda s monoklonální protilátkou je citlivější k proteinu CELA-3B [46], polyklonální protilátky k proteinu CELA-3A [47]. Referenční hodnoty jsou 200 - 500 µg/g stolice, hraniční pásmo je 100 až 200 µg/g, závažná pankreatická insuficience je stanovena při hodnotách < 100 µg/g stolice. Imunochemické stanovení elastázy-1 není ovlivněno pasáží tlustým střevem, substituční terapií - suplementací pankreatickými enzymy ani jinými faktory, které ovlivňují enzymové stanovení chymotrypsinu ve stolici. Detekce elastázy-1 polyklonální protilátkou suplementací při terapii PERT ovlivněna je [48]. Senzitivita a specifická metody je pro detekci mírné formy PEI 49 % a 92 %, pro středně těžkou 67 % a 86 %, pro těžkou formu 97 a 91 % [49]. Test je běžně používán v pediatrii k průkazu cystické fibrózy se specifitou i senzitivitou téměř 100 %. Falešně snížená hodnota může být způsobena zředěním (obsahem vody) při průjmu, u pacientů s celiakií (nedostatek a snížené uvolňování hormonů z endokrinních buněk střevních při difúzním poškození, které stimuluje pankreatickou sekreci), po resekci žaludku Billroth II (postcibální asynchronie), u kachektických pacientů s omezeným perorálním příjmem potravy (snížená syntéza pankreatických enzymů při malnutričních stavech) a u pacientů s obstrukčním ikterem (snížená stimulace žluči) [50].

Stanovení plasmatických markerů

Pro posouzení exokrinní funkce pankreatu byla v uplynulých letech ověřována hladina několika plasmatických markerů. Pankreatický polypeptid (PP) má 36 aminokyselin, jedná se o hormon s parakrinním účinkem a je produkován PP buňkami Langerhansových ostrůvků. Pravděpodobně se podílí na regulaci exokrinního pankreatu a inhibuje sekreci pankreatické šťávy a žluči. Plasmatická hladina PP koreluje po stimulaci sekretinem s ERCP nálezem u chronické pankreatitidy [51]. Funkčním testem s perorální nebo intravenózní stimulací byl aminokyselinový konsumpční test (AACT). Hladina aminokyselin v plasmě byla měřena kolorimetrickou metodou s p-benzoquinonem, nebo později HPLC separací. Pro stimulaci pankreatu se používal oktapeptid cholecystokininu (40 ng/kg) nebo caerulein (50 ng/kg). AACT vykazoval srovnatelnou citlivost i specifickou jako pankreolaurylový nepřímý test [52], do klinické rutiny zařazen nikde nebyl.

Nutriční markery v séru [53] jsou stále doporučovány v některých zemích v diagnostice PEI [3].

Testy exokrinní funkce pankreatu - aktuální dostupnost v České republice

Přímé funkční testy se stimulací sekretinem se v současné době na žádném pracovišti neprovádějí. Nepřímé testy exokrinní pankreatické funkce doporučené evropskou pracovní skupinou HaPanEU (obr. 3), stanovení pankreatické elastázy-1 ve stolici a perorální funkční test s ^{13}C mixed-triglyceridy nabízí několik laboratoří, včetně gastroenterologické laboratoře ÚLBLD v Praze.

Stanovení pankreatické elastázy 1 ve stolici (FE-1) provádíme ELISA testem s monoklonální protilátkou, vzorek stolice vážíme na analytických vahách. V našem souboru 7784 vyšetření bylo 3261 testů (41,8%) provedeno pro děti (0 - 18 let věku), pozitivní FE-1 pod 200 $\mu\text{g/g}$ u 588 dětí (18,1%), pod 100 $\mu\text{g/g}$ u 481 dětí (14,75%). V souboru 4523 dospělých (nad 18 let) byl test pod 200 $\mu\text{g/g}$ pozitivní u 918 osob (20,29%), pod 100 $\mu\text{g/g}$ u 645 osob (14,26%). FE-1 je indikována nej-

častěji jako screeningový test při dyspepsii, bolestech břicha a malabsorpci. Nejčastější gastroenterologické indikace pro FE-1 sumarizuje Tabulka 5.

Dechový test s ^{13}C -MTG provádíme od roku 2001. Pro perorální, nepřímou stimulaci pankreatu podáváme křehký kukuřičný chléb - bezlepkový 100 g s 20 g rostlinného margarínu do kterého je přidáno 250 mg ^{13}C -značeného triglyceridu. Analýza poměru $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ve vydechaném vzduchu je provedena NDIRS technologií a referenční cut-off 30% je vztažen na výpočet BMR zohledňující i pohlaví a věk pacienta [27,28].

Porovnání obou technologií funkčních testů exokrinního pankreatu – hodnot FE-1 a ^{13}C -MTG jsme provedli na souboru 170 osob se susp. chronickou pankreatitidou (CHP), korelační koeficient $r = 0,567$, pro klasifikaci jsme použili systém zohledňující funkční aspekt – přítomnost steatorhoey a diabetes mellitus [54]. Stanovení elastázy-1 ve stolici doporučujeme jako vhodný statický marker pro posouzení kapacity exokrinního pankreatu, dechový test ^{13}C -MTG navrhuje

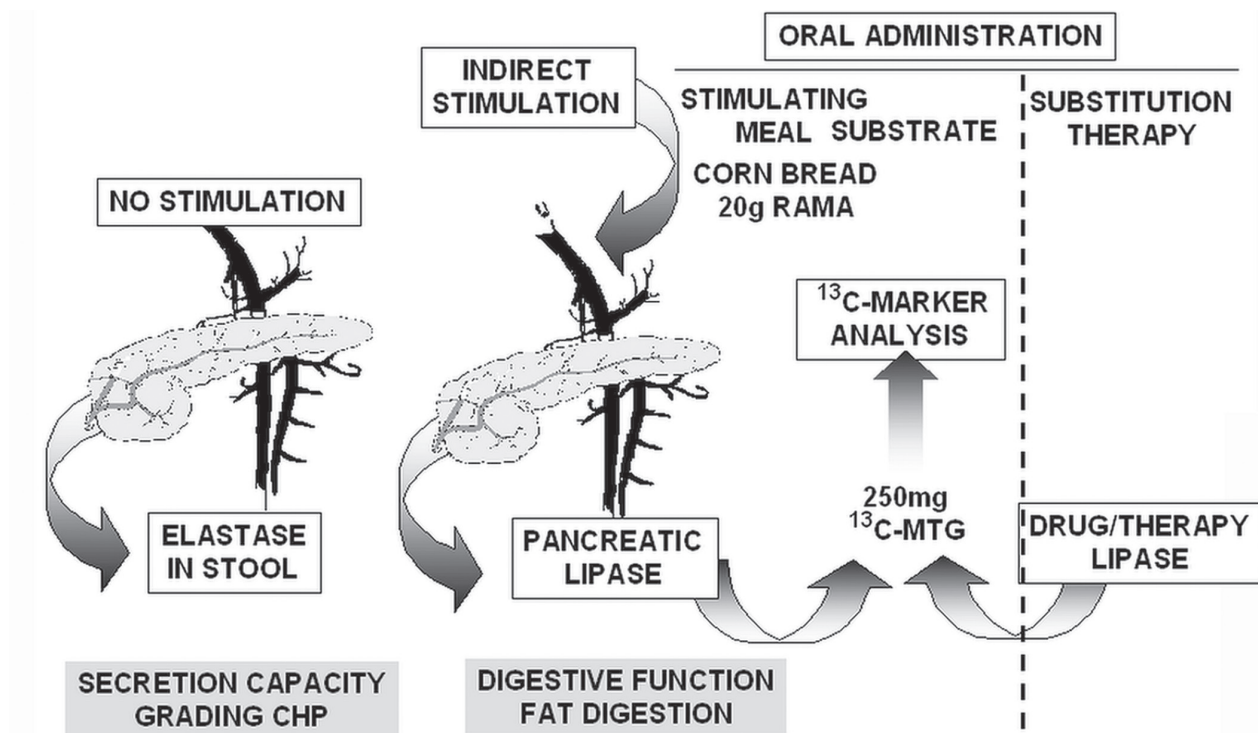


Fig. 3: Principle of functional tests of exocrine pancreas recommended by the European working group HaPanEU performed in the gastroenterological laboratory of the ÚLBLD in Prague - determination of pancreatic elastase-1 in stool and breath test with ^{13}C -mixed triglycerides.

Table 5. Diagnostic indications for the determination of pancreatic elastase-1 in stool in a set of 7784 examinations in the gastroenterological laboratory of the ÚLBLD in Prague.

| Indications for the FE-1 test | Numbers [%] |
|-------------------------------|----------------|
| Dyspepsia (K30) | 1512 (19.42 %) |
| Abdominal pain (R10) | 697 (8.95 %) |
| Malabsorption (K90) | 169 (2.18 %) |
| Intestinal diseases (K63) | 139 (1.78 %) |
| Pancreatitis (K85, K86) | 989 (12.71 %) |
| Cystic fibrosis (E84) | 1058 (13.59 %) |
| Diabetes (E168, E34) | 215 (2.76 %) |

jako dynamický, funkční test k posouzení komplexního, digestivního efektu. Ve skupině CHP-B (bez klinických projevů ztráty funkcí, nemocní nemají diabetes ani steatorhoeu) má normální hodnotu ^{13}C -MTG 87,9% osob. Rozdíl v hodnocení obou testů je především ve skupinách CHP-B a CHP-C3 s prokázanými organickými komplikacemi, kde mírou poškození pankreatické tkáně může být hodnota FE-1, mírou funkční schopnosti hodnota ^{13}C -MTG [55]. V souboru 56 nemocných s CHP jsme prokázali ^{13}C -MTG pod 30% u 3/56 osob, FE-1 pod 200 $\mu\text{g/g}$ byla u 11 nemocných. Substituční terapie PERT byla vysazena u 48 nemocných (85,72%) při 93% subjektivní úspěšnosti [56]. Optimálním řešením je proto jak v diagnostice CHP tak optimalizaci PERT kombinace obou dvou, u nás dostupných neinvazivních pankreatických funkčních testů.

Seznam použitých zkratk

| | |
|----------------------|---|
| ^{13}C -MTG | ^{13}C -Mixed Triglyceride |
| AACT | Amino Acid Consumption Test |
| Ac-Tyr-PABA | 4-N-acetyl-L-tyrosyl-amino-benzoová kyselina |
| ATEE | N-acetyl-L-tyrosin ethyl ester |
| BMR | Basal Metabolic Rate |
| BSA | Body Surface Area |
| BT-PABA | 4-N-benzoyl-L-tyrosyl-amino-benzoová kyselina |
| Bz-Tyr-Ala | Benzoyl-L-tyrosyl-[1- ^{13}C] alanine |
| CCK | Cholecystokinin |
| CELA | Chymotrypsin-like Elastase Family Member |
| CFA | Coefficient of Fat Absorption |
| cPDR | Cumulative Percent Dose Recovered |
| ELISA | Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay |
| EMA | European Medicines Agency |
| ePFT | Endoscopic Pancreatic Function Test |
| ERCP | Endoscopic Retrograde Cholangio-Pancreatography |
| FDA | Food and Drug Administration |
| Fr | jednotka french odpovídající 0,33 mm |
| HaPanEU | Harmonizing Diagnosis and Treatment of Chronic Pancreatitis across Europe |
| M-ANNHEIM | klasifikace pankreatitidy na základě řady faktorů M-Multiple, A-Alcohol, N-Nicotine, N-Nutritiona, H-Hereditary, E-Efferent duct, I-Immunological, M-Miscellaneous and rare metabolic factors |
| MRCP | Magnetic Resonance CholangioPancreatography |
| MRI | Magnetic Resonance Imaging |
| NDIRS | NonDispersive InfraRed Spectrometry |
| PABA | 4-aminobenzoová kyselina |
| PAS | 4-aminosalicylová kyselina |
| PEI | Pancreatic Exocrine Insufficiency |
| PERT | Pancreatic Enzyme Replacement Therapy |
| PP | Pancreatic Polypeptide |
| sMRCP | Secretin-stimulate MRCP |
| TAME | p-toluen sulphonyl-1-arginin methyl ester |

Literatura

1. Keller, J., Aghdassi, A. A., Lerch, M. M. et al. Tests of pancreatic exocrine function - clinical significance in pancreatic and non-pancreatic disorders. *Best Pract. Res.*

2. Löhr, J. M., Dominguez-Munoz, E., Rosendahl, J. et al. HaPanEU/UEG Working. United European Gastroenterology evidence-based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis. *United Eur. Gastroenterol. J.* 2017, 5/2, p. 153-199.
3. Carnie, L. E., Lamarca, A., McNamara, M. G. et al. The assessment of pancreatic exocrine function in patients with inoperable pancreatic cancer: In need of a new gold-standard. *Pancreatology*, 2020, 20/4, p. 668-675
4. Sperti, C., Moletta, L. Staging chronic pancreatitis with exocrine function tests: Are we better? *World J Gastroenterol.*, 2017, 23/38, p. 6927-6930
5. Lieb, J. G., Draganov, P. V. Pancreatic function testing: here to stay for the 21st century. *World J Gastroenterol.*, 2008, 14/20, p. 3149-3158.
6. Boeck, W. G., Adler, G., Gress, T. M. Pancreatic Function Tests: When to Choose, What to Use. *Curr. Gastroenterol. Rep.*, 2001, 3, p. 95-100
7. Dreiling, D. A., Hollander, F. Studies in pancreatic function; preliminary series of clinical studies with the secretin test. *Gastroenterology*, 1948, 11, p. 714-729
8. Lundh, G. Pancreatic exocrine function in neoplastic and inflammatory disease, a simple and reliable new test. *Gastroenterology*, 1962, 42, p. 275-280.
9. Madzak, A., Engjom, T., Wathle, G. K., et al. Secretin-stimulated MRI assessment of exocrine pancreatic function in patients with cystic fibrosis and healthy controls. *Abdom. Radiol. (NY)*. 2017, 42/3, p. 890-899.
10. Engjom, T., Tjora, E., Erchinger, F., et al. Secretin-Stimulated Magnetic Resonance Imaging Reveals Variable Diagnostic Accuracy According to Etiology in Pancreatic Disease. *Pancreas*, 2020, 49/3, p. 361-367.
11. Engjom, T., Tjora, E., Wathle, G., et al. Secretin-stimulated ultrasound estimation of pancreatic secretion in cystic fibrosis validated by magnetic resonance imaging. *Eur. Radiol.*, 2018, 28/4, p. 1495-1503
12. Lara, L. F., Takita, M., Burdick, J. S., et al. A study of the clinical utility of a 20-minute secretin-stimulated endoscopic pancreas function test and performance according to clinical variables. *Gastrointest. Endosc.*, 2017, 86/6, p. 1048-1055.
13. Van Slyke, D. D., Neill, J. M., The determination of gases in blood and other solutions by vacuum extraction and manometric measurement. *J. Biol. Chem.*, 1924, 61, p. 523-573.
14. Erchinger, F., Engjom, T., Gudbrandsen, O. A., et al. Automated spectrophotometric bicarbonate analysis in duodenal juice compared to the back titration method. *Pancreatology*, 2016, 16/2, p. 231-237.
15. Engjom, T., Erchinger, F., Tjora, E., et al. Diagnostic accuracy of secretin-stimulated ultrasonography of the pancreas assessing exocrine pancreatic failure in cystic fibrosis and chronic pancreatitis. *Scand. J Gastroenterol.*, 2015, 50/5, p. 601-610.
16. Imondi, A. R., Stradley, R. P., Wolgemuth, R. Synthetic peptides in the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency in animals. *Gut.*, 1972, 13/9, p. 726-731.
17. Malis, F., Fric, P., Kasafirek, E., Slaby, J. Comparative study of the estimation of exocrine pancreatic function using p-(N-acetyl-L-tyrosyl)- and p-(N-benzoyl-L-tyrosyl) aminobenzoic acid. *Hepatogastroenterology*, 1983, 30/3, p. 99-101.
18. Bures, J., Fixa, B., Hottmarová, A. et al. Study of the Exocrine Secretory Function of the Pancreas Using the SPOFA-GNOST Kit. First Personal Experience. *Vnitr. Lek.*, 1984, 30/3, p. 279-283.

19. **Lankisch, P. G., Brauneis, J., Otto, J., Göke, B.** Pancreolauryl and NBT-PABA tests. Are serum tests more practicable alternatives to urine tests in the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency? *Gastroenterology*, 1986, 90/2, p. 350-354.
20. **Hoek, F. J., Vandenbergh, F. A. G., Klein Elhorst, J. T. et al.** Improved specificity of the PABA test with p-aminosalicylic acid (PAS). *Gut*, 1987, 28, p. 468-473.
21. **Chen, W. L., Morishita, R., Eguchi, T. et al.** Clinical Usefulness of Dual-Label Schilling Test for Pancreatic Exocrine Function. *Gastroenterology*, 1989, 96/5/1, p. 1337-1345.
22. **Ishii, Y., Kohno, T., Ito, A. et al.** Measurement of extra-pancreatic secretory function by ¹³C-dipeptide breath test. *Transl. Res.*, 2007, 149/6, p. 298-303.
23. **Kocna, P., Frič, P., Slabý, J.,** Novinky v biochemické diagnostice chorob pankreatu. in Nové diagnostické metody a jejich přínos pro lékař.praxi. ed. Hyánek, J. Vrbová, H. Universita Karlova Praha, 1990, p. 118-122
24. **Perušičová, J., Kocna, P.,** Vztah mezi poruchou vnitřní a zevní funkce pankreatu u nemocných s chronickou pankreatitidou., *Čs. Gastroent. výživa*, 1989, 43/2, p. 73-79
25. **Nakamura, H., Morifuji, M., Murakami, Y., et al.** Usefulness of a ¹³C-labeled mixed triglyceride breath test for assessing pancreatic exocrine function after pancreatic surgery. *Surgery*, 2009, 145/2, p. 168-175.
26. **Domínguez-Muñoz, J. E., Iglesias-García, J., Iglesias-Rey, M. et al.** Effect of the administration schedule on the therapeutic efficacy of oral pancreatic enzyme supplements in patients with exocrine pancreatic insufficiency: a randomized, three-way crossover study. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2005, 21/8, p. 993-1000.
27. **Chleboun, J., Kocna P.,** Isotope selective nondispersive infrared spectrometry can compete with isotope ratio mass spectrometry in cumulative ¹³CO₂ breath tests: Assessment of accuracy. *Klin. Biochem. Metabol.*, 2005, 13, p. 92-97.
28. **Kocna, P., Vaníčková, Z., Krechler, T. et al.** Testy exokrinní funkce pankreatu - elastáza 1 ve stolici a dechový test s ¹³C-MTG. *HPB Bulletin* 2006, 14/3, p. 97-99
29. **Drumme, G. D., Benson, J. A., Jones, C. M.** Microscopical examination of the stool for steatorrhea. *N Engl. J Med.*, 1961, 264, p. 85-87.
30. **Khouri, M. R., Huang, G., Shiao, Y. F.,** Sudan Stain of Fecal Fat: New Insight Into an Old Test. *Gastroenterology*, 1989, 96/2, p. 421-427.
31. **Tran, M., Forget, P., Van den Neucker, A. et al.** The acid steatocrit: a much improved method. *J Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1994, 19/3, p. 299-303.
32. **Amann, S. T., Josephson, S. A., Toskes, P. P.** Acid steatocrit: a simple, rapid gravimetric method to determine steatorrhea. *Am. J Gastroenterol.*, 1997, 92, p. 2280-2284.
33. **Kamath, M. G., Pai, C. G., Kamath, A., Kurien, A.** Comparing acid steatocrit and faecal elastase estimations for use in M-ANNHEIM staging for pancreatitis. *World J Gastroenterol.*, 2017, 23/12, p. 2217-2222.
34. **Lieb, J. G., Draganov, P. V.** Pancreatic function testing: here to stay for the 21st century. *World J Gastroenterol.*, 2008, 14/20, p. 3149-3158.
35. **Erchinger, F., Engjom, T., Jurmy, P. et al.** Fecal Fat Analyses in Chronic Pancreatitis Importance of Fat Ingestion before Stool Collection. *PLoS One*, 2017, 12/1, e0169993.
36. **Van De Kamer, J. H.:** Quantitative Determination of the Saturated and Unsaturated Higher Fatty Acids in Fecal Fat. *Scand. J Clin. Lab. Invest.*, 1953, 5/1, p. 30-36.
37. **Neucker, A. V., Bijleveld, C. M., Wolthers, B. G., et al.** Comparison of near infrared reflectance analysis of fecal fat, nitrogen and water with conventional methods, and fecal energy content. *Clin. Biochem.*, 2002, 35/1, p. 29-33.
38. **Fine, K. D., Fordtran, J. S.** The effect of diarrhea on fecal fat excretion. *Gastroenterology*, 1992, 102/6, p. 1936-1939.
39. **Capurso, G., Traini, M., Piciocchi, M. et al.** Exocrine pancreatic insufficiency: prevalence, diagnosis, and management. *Clin. Exp. Gastroenterol.*, 2019, 12, p. 129-139.
40. **Schlaeger, R., Röhr, A.** Faecal chymotrypsin--a new photometric method using N-acetyl-L-tyrosine ethyl ester as substrate. *J Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1982, 20/3, p. 147-150.
41. **Kaspar, P., Möller, G., Wahlefeld, A.** New photometric assay for chymotrypsin in stool. *Clin. Chem.*, 1984, 30/11, p. 1753-1757.
42. **Lankisch, P. G.** Exocrine pancreatic function tests. *Gut*. 1982, 23/9, p. 777-798.
43. **Stockbrügger, R. W., Armbrrecht, U., Müller, E., Heusinger, A.** Determination of faecal chymotrypsin concentration and 72-hour faecal chymotrypsin output in the detection of pancreatic steatorrhea. *Scand. J Gastroenterol. Suppl.*, 1991, 188, p. 13-19.
44. **Lüth, S., Teysse, S., Forssmann, K. et al.** Fecal elastase-1 determination: 'gold standard' of indirect pancreatic function tests? *Scand. J Gastroenterol.*, 2001, 36/10, p. 1092-1099.
45. **Stevens, T., Conwell, D., Zuccaro, G., et al.** Analysis of pancreatic elastase-1 concentrations in duodenal aspirates from healthy subjects and patients with chronic pancreatitis. *Dig. Dis. Sci.*, 2004, 49/9, p. 1405-1411.
46. **Tóth, A. Z., Szabó, A., Hegyi, E. et al.** Detection of human elastase isoforms by the ScheBo Pancreatic Elastase 1 Test. *Am. J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2017, 312/6, G606-G614.
47. **Weiss, F. U., Budde, C., Lerch, M. M.** Specificity of a Polyclonal Fecal Elastase ELISA for CELA3. *PLoS One*, 2016, 11/7, e0159363.
48. **Schneider, A., Funk, B., Caspary, W., Stein, J.,** Monoclonal versus polyclonal ELISA for assessment of fecal elastase concentration: pitfalls of a new assay. *Clin. Chem.*, 2005, 51/6, p. 1052-1054.
49. **Vanga, R. R., Tansel, A., Sidiq, S. et al.** Diagnostic Performance of Measurement of Fecal Elastase-1 in Detection of Exocrine Pancreatic Insufficiency: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2018, 16/8, p. 1220-1228.
50. **Forsmark, C. E.** Diagnosis and Management of Exocrine Pancreatic Insufficiency. *Curr. Treat. Options Gastroenterol.*, 2018, 16/3, p. 306-315.
51. **Stern, I., Roberts-Thomson, I. C., Hansky, J.** Correlation between pancreatic polypeptide response to secretin and ERCP findings in chronic pancreatitis. *Gut*, 1982, 23/3, p. 235-238.
52. **Gullo, L., Pezzilli, R., Ventrucci, M.** Diagnostic value of the amino acid consumption test in pancreatic diseases. *Pancreas*, 1996, 12/1, p. 64-67
53. **Lindkvist, B., Domínguez-Muñoz, J. E., Luaces-Regueira, M. et al.** Serum nutritional markers for prediction of pancreatic exocrine insufficiency in chronic pancreatitis. *Pancreatol.*, 2012, 12/4, p. 305-310.
54. **Büchler, M. W., Malfertheiner, P.,** A proposal for new classification of chronic pancreatitis based on clinical picture, imaging and pancreatic function. Chronic pan-

creatitis - International Meeting EDS/EAGE Postgraduate Course, Bern, 2000.

55. **Kocna, P.**, Laboratorní diagnostika malabsorpčního syndromu. in Gastroenterologie 2006 - Collectio novissima, ed. Bureš J., Triton-Praha, 2006, p. 181-198
56. **Kocna, P., Kohout, P.**, Clinical, therapeutical and economical benefit of exocrine pancreatic function tests. *Pancreatology*, 2012, 12/6, p. 521

Autor prohlašuje, že není ve střetu zájmů.
Do redakce došlo 22. 6. 2020

Adresa pro korespondenci
MUDr. Petr Kocna, CSc.
ÚLBLD 1. LF UK a VFN
Na Bojišti 3
121 08 Praha 2
e-mail: kocna@lf1.cuni.cz