

E-Klinická biochemie



Laboratorní diagnostika v gastroenterologii

Autor: MUDr. Petr Kocna, CSc.

Recenzent: MUDr. Milan Dastych

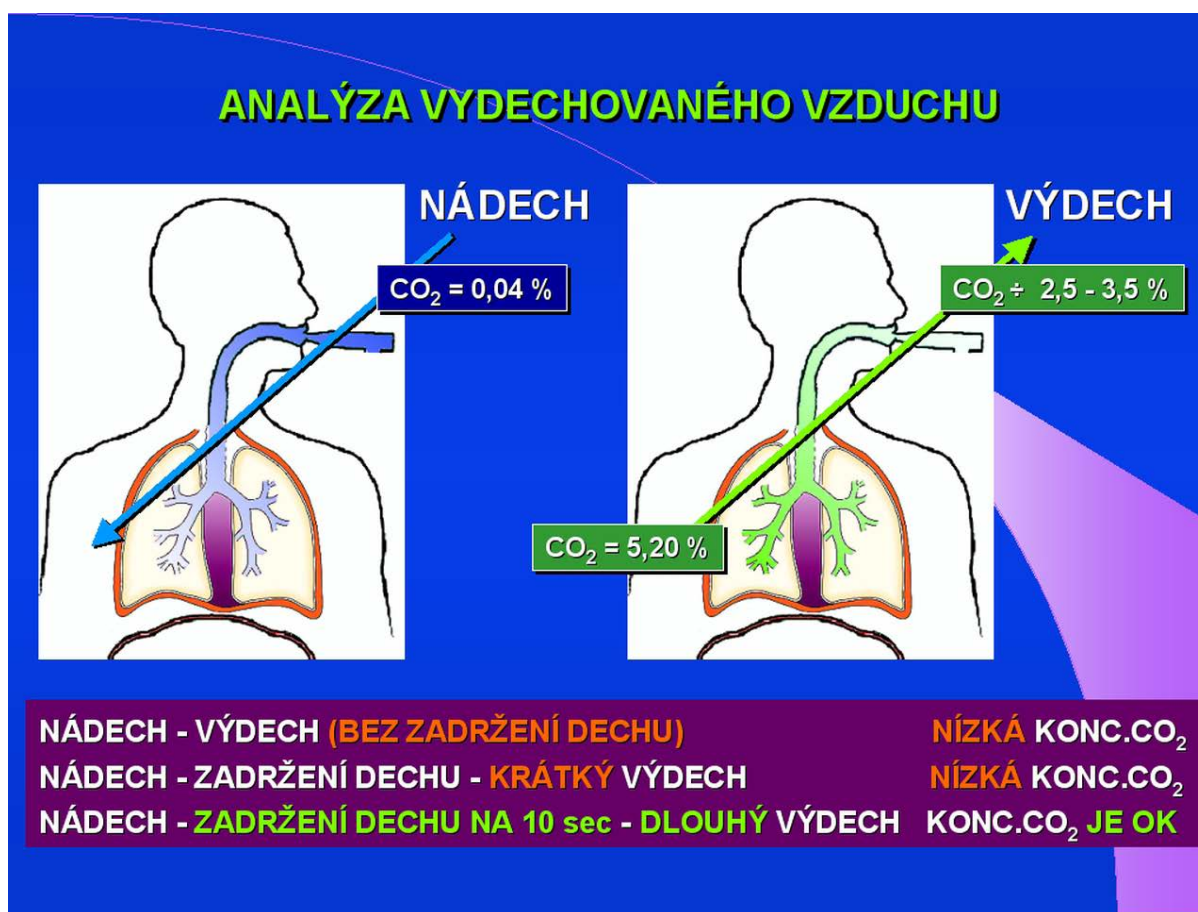
Uvedená práce (dílo) podléhá licenci Creative Commons Uveďte autora-Neužívejte dílo komerčně-Nezasahujte do díla 3.0 Česko

Laboratorní diagnostika v gastroenterologii zahrnuje cílené, diagnostické metody, specifické screeninové programy a neinvazivní funkční vyšetřovací programy využívající moderní metody detekce analytů ve stolici nebo pomocí dechových testů.

Screeningové (vyhledávací) programy jsou zaměřeny na časnou diagnostiku onemocnění, které jinak zůstávají, v této časné fázi, nerozpoznány. Screeningové programy se provádějí u asymptomatických osob (bez příznaků onemocnění). U definovaných tzv. vysokorizikových skupin se jedná o programy dispenzární. Gastroenterologický screening v současné době zahrnuje dva základní programy - screening celiakie a screening kolorektálních nádorů.

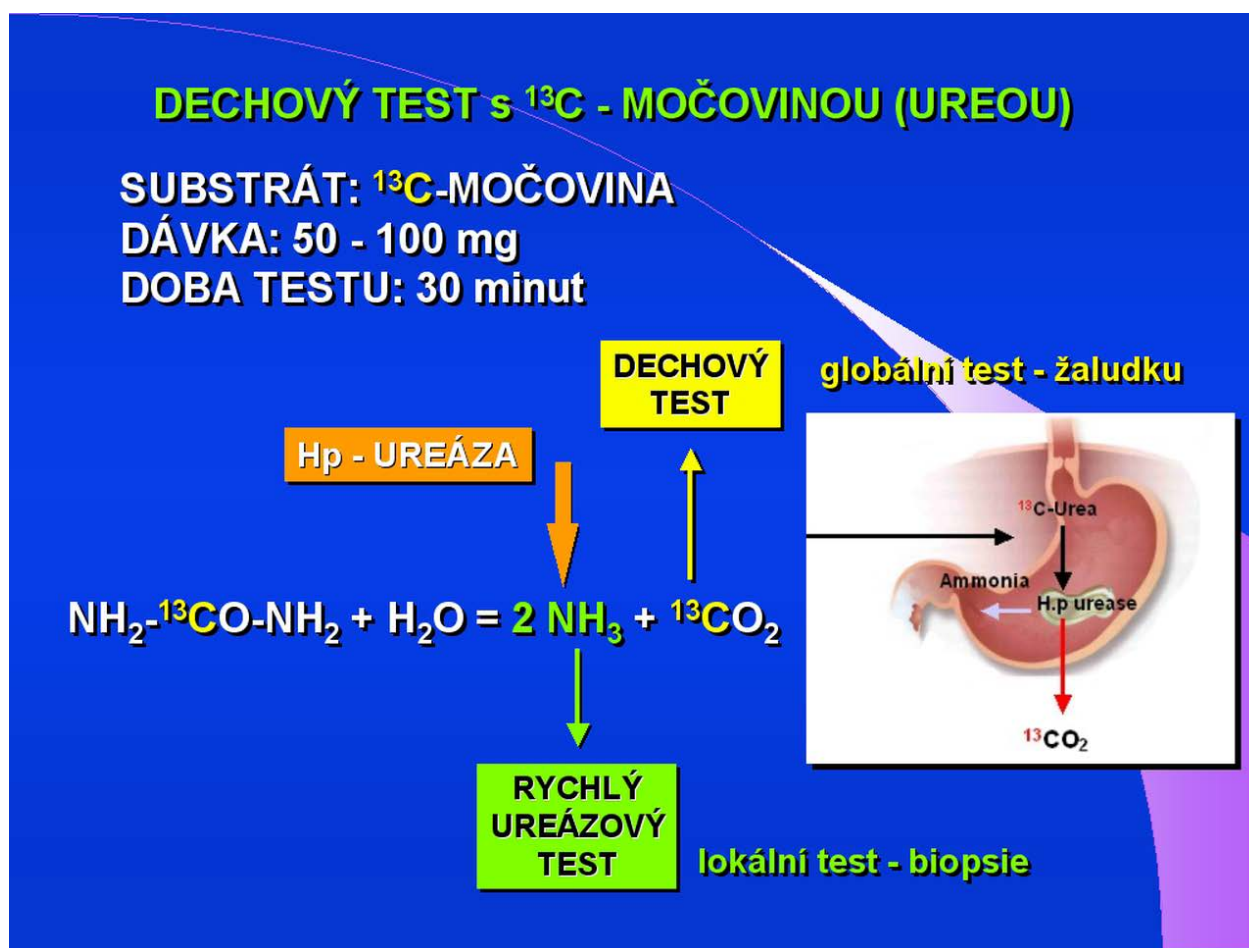
Funkční testy tvoří významnou složku klinicko-diagnostického procesu v gastroenterologii. Doplnují výsledky zobrazovacích technik o podstatnou informaci, kterou je funkce orgánu, resp. schopnost reagovat na stimulaci. Funkční test zahrnuje přesně definovanou stimulaci a výsledek je interpretován jako odpověď orgánu na stimulaci s přihlédnutím k bazálním hodnotám analytu před stimulací. U nepřímých funkčních testů je nutno navíc při interpretaci posuzovat funkci dalších orgánů nebo systémů, které se na procesu podílejí.

Moderní, neinvazivní funkční diagnostika je zaměřena na dechové testy založených na měření koncentrace vodíku nebo ^{13}C -uhlíku ve vydechovaném vzduchu. Aplikace H_2 -dechových testů pokrývají širokou oblast od diferenciální diagnostiky malabsorpčního syndromu k syndromu bakteriálního přerůstání v tenkém střevě (SBBO), stanovení motility gastrointestinálního traktu, orocékální transit time (OCCT), nebo kvalita přípravy tlustého střeva před endoskopickým vyšetřením. Doba pasáže gastrointestinálním traktem je důležitým údajem pro vyhodnocení a interpretaci jiných funkčních testů, a je proto často kombinován s dalšími dechovými testy, např. $^{13}\text{C}/\text{H}_2$ -laktóзовый test, kdy je hodnoceno enzymatické štěpení laktózy (markerem je ^{13}C uhlík) a současně jako korekce motility, pasáže je použito bakteriálního štěpení v tlustém střevu (markerem je H_2). Spolehlivost a vyhodnocení H_2 dechových testů zvyšuje analýza nejen vodíku, ale kombinace se stanovením metanu, což umožňují jak GC (Gas Chromatography) analyzátory tak dnes i NDIRS (Nondispersive Isotope-selective Infrared Spectroscopy) technologie.



Laboratorní diagnostika patologií žaludku zahrnuje serologické testy stavu žaludeční sliznice - hladinu gastrinu-17, poměru pepsinogenů I a II (pepsinogenů A a C), infekce *Helicobacter pylori*, Hp-protilátek, CagA a VacA antigenů, funkční test žaludeční acidity - HCl a test motility žaludku dechový test - OABT.

Diagnostika infekce *Helicobacter pylori* zahrnuje testy invazivní, vyžadující odběr biotického vzorku žaludeční nebo duodenální sliznice nebo testy neinvazivní. Kultivační test vykazuje nejvyšší sensitivitu i specifitu, nevýhodou je však značná citlivost bakterie *Helicobacter pylori* ke kyslíku, což vyžaduje speciální podmínky odběru a transportu. Rychlý ureázový (CLO) test je založen na chromogenní detekci aktivity ureázy (povrchový marker bakterie *Helicobacter pylori*) a je rutinním průkazem při endoskopii. Novější testy stanovují v biopsii *Helicobacter pylori* imunologickým průkazem - metoda iRUT. Molekulární biologie a metody PCR umožňují další moderní metody detekce *Helicobacter pylori*, v biopsiích i ve vzorcích stolice. Dechový test s ¹³C-značenou močovinou - UBT je zlatým standardem diagnostiky infekce *Helicobacter pylori*, test lze provádět i endoskopicky s podáním 20 mg značené močoviny a odběrem plynného obsahu žaludku biotickým kanálem endoskopu. Spolehlivou variantou detekce Hp je neinvazivní test detekce Hp. antigenu ve stolici.

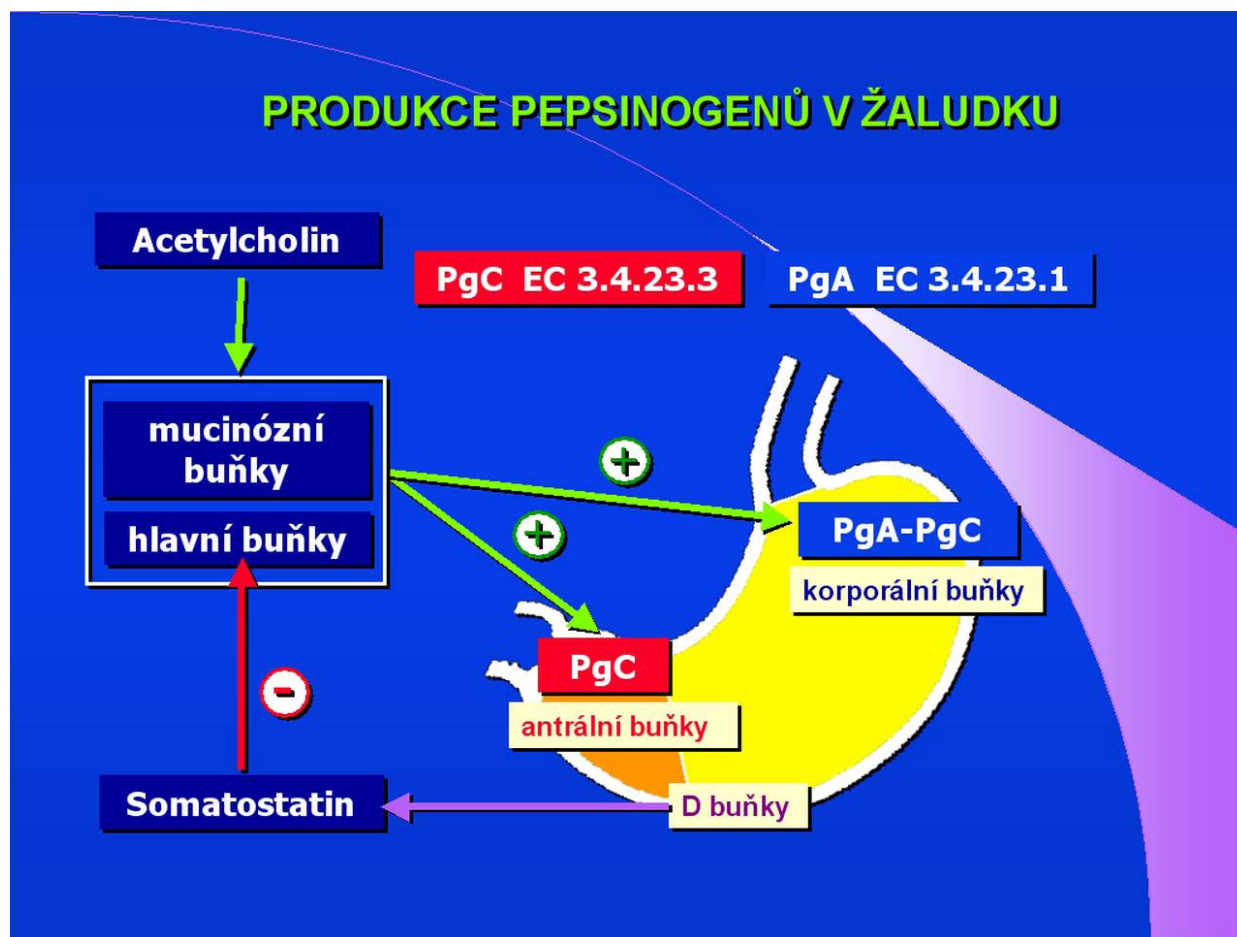


Vyšetřování žaludeční acidity je založeno na stimulaci parietálních buněk, odběru žaludeční šťávy a stanovení obsahu volné a celkové HCl. Ke stimulaci je nejvhodnější pentagastrin, použit lze i histaminu (Lamblingův test) nebo insulinu. Hodnocení funkčního testu je však závislé na typu stimulace tj. výsledek se liší po podání gastrinu, histaminu nebo insulinu. Hypochlorhydrie (hypocidita) až achlorhydrie (anacidita) je signifikantním příznakem perniciózní anémie nebo podezření na malignitu (karcinom žaludku vykazuje však v časných stádiích hyperaciditu i normoaciditu). Diagnosticky významné je stanovení žaludeční acidity při Zollinger-Ellisonově syndromu, kdy prokazujeme vysokou bazální i maximální sekreci ($\text{BAO} > 15$, $\text{MAO} > 60$), ve více než 50% případů Zollinger-Ellisonova syndromu je index $\text{BAO}/\text{MAO} > 0.60$. Pentagastrinová stimulace testu je aplikovatelná i pro analýzu mucinu. Nejnovější studie používají pro stanovení hypochlorhydrie bQRT test (Blood Quininium Resin Test). Endoskopickou variantou funkčního testu je stimulace 4 μg tetragastrinu/kg váhy subkutánně s odběrem 10minutové sekrece (20-30 min po stimulaci) a titračně je stanovena acidita v $\text{mEq}/10\text{min}$. Korelace s $\text{MAO}-\text{BAO}$ je $r=0.92$, reprodukovatelnost testu $\text{CV}=5.6\%$. Novinkou roku 2009 je také dechový test s podáním značeného calcium-carbonátu.

Hladina gastrinu v séru stanovená RIA nebo ELISA imunochemickou detekcí je 25-100 ng/l. U Zollinger-Ellisonova syndromu (gastrinom, tumor pankreatu s nadprodukcí gastrinu) prokazujeme 10-1000 násobné zvýšení hladiny gastrinu, která však výrazně kolísá i v průběhu dne; u 20-40% lze zachytit i normální hladinu gastrinu. Vzhledem k existenci tří forem gastrinu závisí výsledek stanovení na typu protilátky použité v testu. Metody stanovení gastrinu jsou standardizovány na syntetický gastrin G-17, stanovení forem G-34 a G-13 závisí na zkřížené reaktivitě s příslušnou protilátkou. Normální poměr forem G-13:G-17:G-34 je 8:2:1, na lačno je vyšší zastoupení formy G-34, po jídle forem G-17 a G-13. Stanovení gastrinu je součástí gastrinového stimulačního testu, kdy stanovujeme 90ti minutový profil (v 9 vzorcích séra) po stimulaci insulinem, sekretinem nebo Ca-glukonátem.

Pepsinogen A je markerem slizniční atrofie a je používán v genetických studiích jako subklinický marker vředové choroby duodena. Pepsinogen C je používán jako marker stavu žaludeční sliznice (případně v poměru PG-A/PG-C) a rovněž jako marker eradikace infekce *Helicobacter pylori*. Elektroforeticky lze separovat v agarovém gelu 8 proteáz žaludeční sliznice, pepsinogeny PG1 - PG5 tvoří skupinu imunologicky identických proteinů - pepsinogen I (PG-I, PGA), pepsinogeny PG6 a PG7 tvoří skupinu pepsinogenu II (PG-II, PGC), posledním proteinem je katepsin E (SMP, Slow Moving Proteinase). Snížení hladiny pepsinogenu A

prokazujeme u nemocných s achlorhydrií např. u perniciózní anémie. Nejnovější studie prokazují významné snížení pepsinogenu-I a současně zvýšení hladiny IgA protilátek k *Helicobacter pylori* u karcinomu žaludku. Detekce pepsinu ve slinách-sputu je rovněž indikována jako jednoduchý screening GERD (gastroesophageal reflux disease) při extra-gastrických projevech onemocnění. Poměr PG-I:PG-II signifikantně klesá v závislosti na histologickém riziku, nebo přítomnosti vacA+ positivity *Helicobacter pylori* infekce. Kombinace stanovení hladiny pepsinogenu-I, gastrinu-17 a protilátek k *Helicobacter pylori* je testováno jako tzv. serologická biopsie, GastroPanel - v diferenciální diagnostice gastritid. Screeningové testování rizika atrofické gastritidy, resp. rizika karcinomu žaludku, ve spojení s pozitivitou *Helicobacter pylori*, je další oblastí screeningu nádorů gastrointestinálního traktu. Klinický význam má rovněž stanovení pepsinu při insulinovém testu.

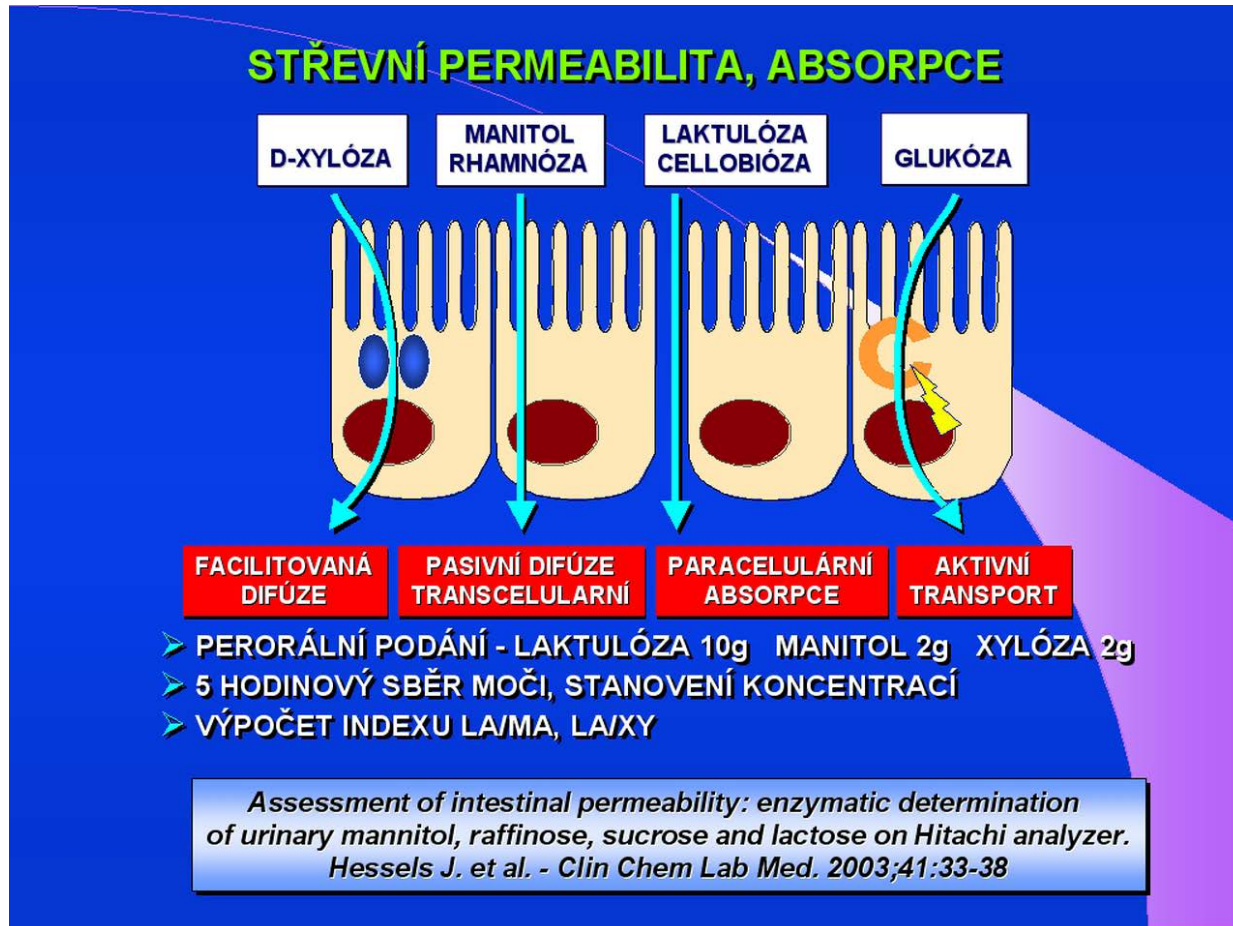


Dechový test s podáním 13C-oktanové kyseliny (kyselina kaprylová) je neinvazivním testem gastrické evakuace, který lze použít v diferenciální diagnostice funkčních dyspepsií, refluxních onemocnění i pro indikaci některých moderních léků (prokinetika). Kyselina oktanová se nevstřebává v žaludku, ale poměrně rychle je vstřebávána duodenální sliznicí. Metabolickou aktivitou je v jaterní tkáni produkován $^{13}\text{C}_2\text{O}_2$, který je pak stanoven ve vydechovaném vzduchu. Rozmezí normálních hodnot je 110-160 minut pro solidní stravu a 91-155 minut pro semi-solidní stravu. Vyšetření rychlosti evakuace žaludku dechovým testem s ^{13}C -oktanoátem vykazuje vysokou korelaci se scintigrafickou metodou.

Laboratorní diagnostika malabsorpčního syndromu zahrnuje především funkční testy zaměřené na objasnění příčiny a stupně malabsorpce (primární, sekundární malabsorpční syndrom) a dále serologické testy týkající se screeningu a dlouhodobého sledování nemocných s celiakií. Funkční testy zahrnují zátěžové, toleranční testy s perorálním podáním D-xylózy nebo A-vitaminu, testy střevní permeability např. laktulózo/mannitolový - La/Ma test. Laktulózo/mannitolový test lze kombinovat i s podáním D-xylózy, sucralózy a dalších cukrů. Analýza jednotlivých cukrů je provedena technikou plynové chromatografie pro relativní indexy permeability. Průměrná hodnota LA/MA indexu je 0.016 ± 0.008 a LA/XY 0.013 ± 0.009 . LA/MA testu střevní permeability lze využít při monitorování postoperační chemoterapie.

K funkčním testům může být použito i jiných látek např. železo a vitamin B12 (Schillingův test) nebo testy sekreční funkce se značeným albuminem (51Cr-albuminový test). Pro odběr vzorků po podání testované látky a při interpretaci je nutno zvažovat

nejen dobu pasáže ale i rozdílnou lokalizaci v tenkém střevu (od duodena po terminální ileum), kde dochází ke vstřebávání testovaného substrátu. Neinvasivními dechovými testy je dechový test s ^{13}C -laktózou nebo dechový test s ^{13}C -xylózou vhodný pro detekci bakteriálního přerůstání v tenkém střevu.



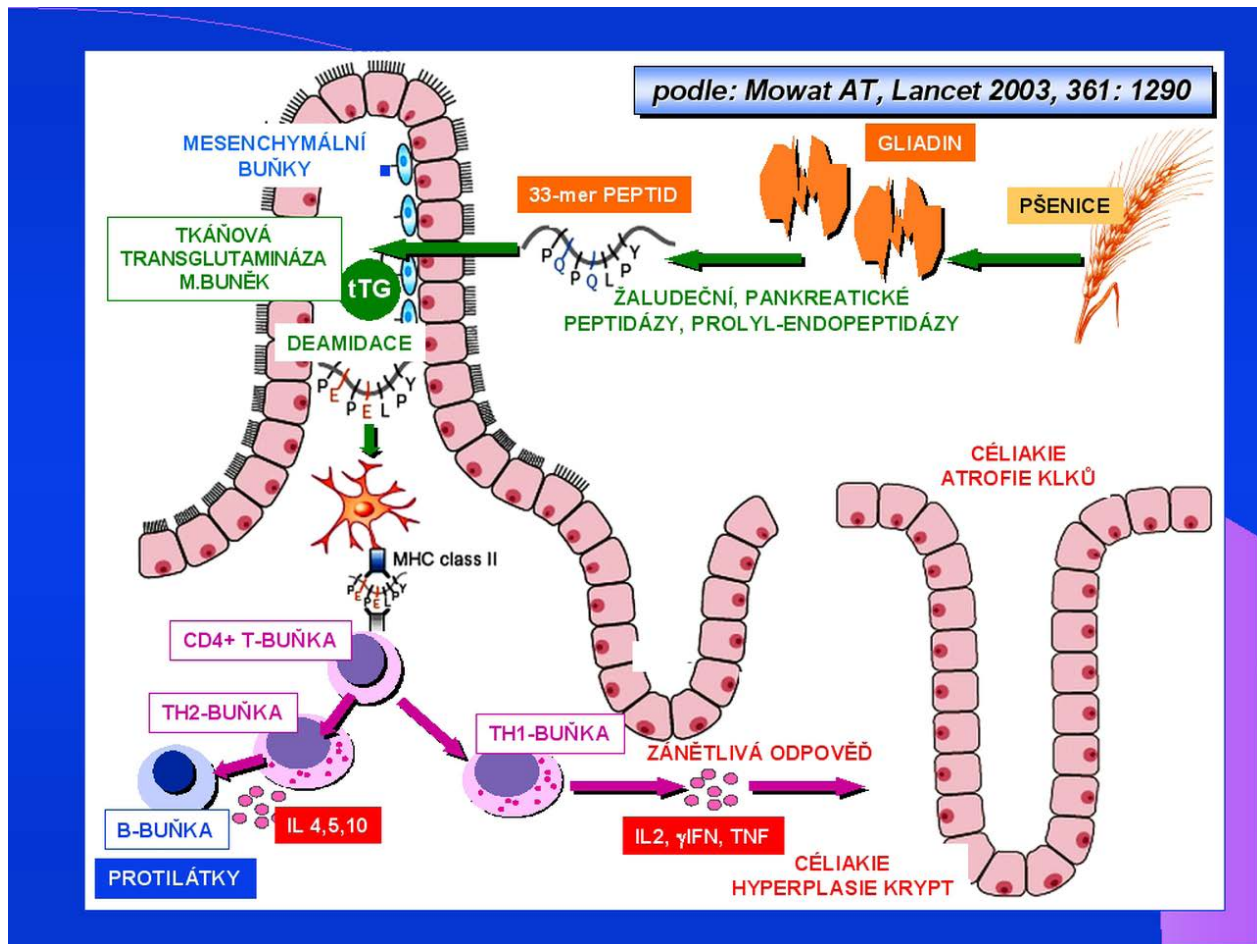
Komplexní vyšetření stolice, od makroskopického posouzení, stanovení objemu, struktury, pH, k analytickému stanovení laboratorních markerů je považováno za základní vyšetřovací proces při podezření na malabsorpční syndrom. Kvalitativní stanovení přítomnosti nenatrávených cukrů, tuků a proteinů - mikroskopicky hodnocené barvení stolice uvádějí i nejnovější publikace interní medicíny, gastroenterologie i klinické biochemie.

β -karoten a A-vitamin jsou rozpustné v tucích, β -karoten je retinoid - prekursor vitamínu A a jejich hladina v séru je proto závislá na trávení a vstřebávání tuků. V cirkulaci je β -karoten vázán z 80% na LDL, 8% na HDL a z 12% na VLDL lipoproteiny. Ze sérových karotenoidů tvoří β -karoten asi 25%. Z klinického hlediska je významný velmi krátký poločas β -karotenu resp. jeho rychlá konverze na A-vitamin. Klinický význam má stanovení β -karotenu především jako screeningový test při podezření na malabsorpční syndrom. Zvýšená hladina β -karotenu je popsána u hypothyreózy, diabetes mellitus, myxedému, nefrotického syndromu, hyperlipoproteinémií a u žen v těhotenství. Referenční hodnoty závisí na postupu stanovení, běžně je uváděno rozmezí pro extrakční metodu tj. stanovení celkových sérových karotenoidů, 0.90-4.60 $\mu\text{mol/l}$, užší pásmo referenčních hodnot je 1.12-3.72 $\mu\text{mol/L}$. Pro screening malabsorpčního syndromu u dospělých se uvádí pouze dolní hranice 0.93 $\mu\text{mol/l}$, pro HPLC techniku specificky stanovující pouze β -karoten je popsáno referenční pásmo 0.37-74 $\mu\text{mol/l}$. Zátěžový toleranční test s A-vitaminem je hodnocen vzestupem hladiny v séru za 3 a 5 hodin po podání testovací zátěže. Normální hodnoty za 3 hodiny jsou v pásmu 3.6-12.6 $\mu\text{mol/l}$, za 5 hodin 7.2-24.6 $\mu\text{mol/l}$. Patologický výsledek testu je při hodnotách < 3.6 $\mu\text{mol/l}$ za 3 hodiny resp. < 7.2 $\mu\text{mol/l}$ za 5 hodin.

Toleranční test s D-xylózou je obvykle indikován k potvrzení střevní malabsorpce u gluténové enteropatie (céliakální sprue), tropické sprue. Výsledek výdeje močí je ovlivněn funkcí ledvin. Falešně pozitivní výsledek může být stanoven např. při zvracení, dehydrataci, myxedému, ascitu, edému. Celá řada léků snižuje exkreci D-xylózy ledvinami - např. kyselina aminosalicyllová, acetylosalicyllová, digitalis, indomethacin, neomycin a další. ^{14}C -D-xylózový dechový test a ^{13}C -D-xylózový dechový test je variantou

xylózového absorpčního testu, a je v posledních letech používán častěji než stanovení xylózy v moči. v dg. střevní malabsorbce. Hladina v séru za 1 hod po podání D-xylózy je 1.40-3.80 mmol/l, za 2 hodiny 2.13-3.86 mmol/l, za 3 hodiny 1.27-2.80 mmol/l, za 4 hodiny 0.73-1.93 mmol/l za 5 hodin 0.40-1.20 mmol/l. Patologickým výsledkem je hladina za 2 hodiny u dospělých po podání 25g < 1.67 mmol/l u dětí po podání 5 g < 1.33 mmol/l. V 5ti hodinovém sběru moče je u dětí 5-12 let po podání 5g D-xylózy patologickým výsledkem hodnota < 0.8g/5hod (širší rozmezí normálních hodnot je 0.5-1.65 g/5hod), u dospělých osob po podání 25g hodnota < 4g/5 hod (podle některých autorů je jako patologický hodnocen nález <5g/5 hod), u osob starších 65 let klesá hraniční hodnota na 3.5g/5hod. Při podání D-xylózy podle váhy (především u malých dětí) je normální rozmezí xylózy vyloučené močí za 5 hodin 10-33% podaného množství.

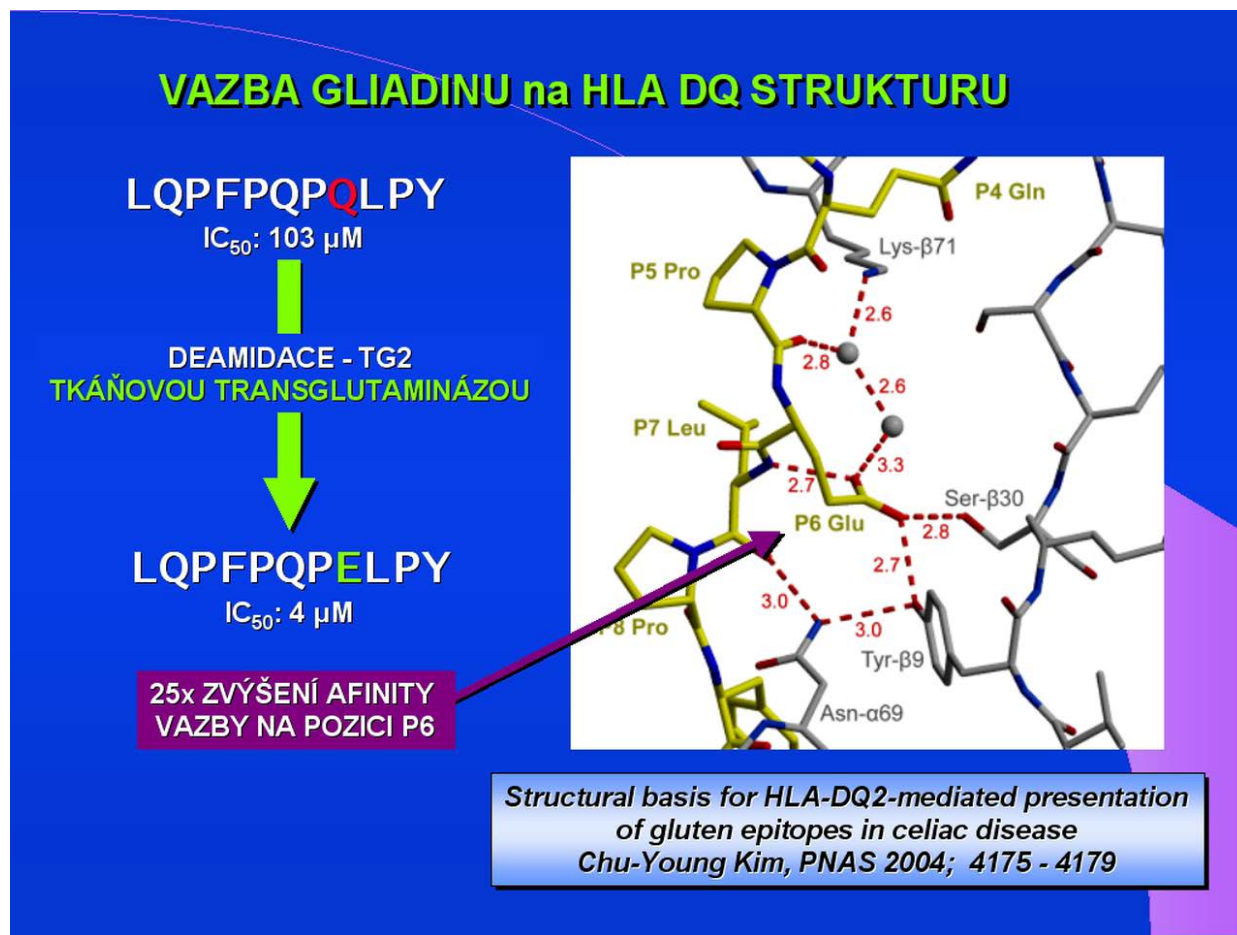
Celiakální sprue (CS), celiakie - glutenová enteropatie je primárním malabsorpčním syndromem. Celiakie je onemocněním autoimunního charakteru s geneticky podmíněnou vazbu (HLA-DQ2/DQ8) a specifickou humorální odpovědí na spouštěcí faktor - peptidy pšeničného gliadinu (lepku) resp. zásobním proteinům (prolaminům) příbuzných obilovin, ječmene, žita a ovsa. Diagnostika celiakie je založena na histologickém, příp. histochemickém vyhodnocení bioptických vzorků sliznice tenkého střeva. Při celiakii prokazujeme zánětlivé změny sliznice, zvýšení počtu intraepiteliálních lymfocytů, léze sliznice tenkého střeva se snížením nebo vymizením klků, hypertrofií Lieberkühnských krypt, poruchou vyzrávání enterocytů a ústup těchto změn po bezlepkové dietě. Diagnostika celiakie je zaměřena především na screening celiakie a zahrnuje protilátky ke gliadinu třídy IgA a IgG (AGA-A, AGA-G), endomysiu (EmA) třídy IgA a IgG a protilátky ke tkáňové transglutamináze třídy IgA a IgG (atTG-A, atTG-G). Tkáňová transglutamináza je enzymem, který má klíčovou roli nejen v diagnostice, ale i ve vlastní patogenezi onemocnění. Gliadin, gliadinové fragmenty a peptidy obsahují velmi vysoké procento glutaminu (30 - 40% tvoří glutamin a prolin) a gliadin je proto velmi dobrým substrátem pro enzym tkáňovou transglutaminázu, která vytváří vazbu na substrát (gliadin), modifikuje tyto peptidy a vznikající neoepitopy se vážou s povrchovými glykoproteiny HLA-DQ2/DQ8 pozitivních imunokompetentních buněk a vyvolávají imunitní odpověď ve sliznici tenkého střeva. Studie z let 2008 - 2010 doporučují detekci protilátek proti synteticky připraveným gliadin-specifickým nonapeptidům resp. deamidovaným peptidům gliadinu. Senzitivita a specifita ELISA testů proti deaminovaným gliadinům (DGP) je srovnatelná se spolehlivostí protilátek ke transglutamináze, DGP protilátky v kombinaci IgA a IgG jsou dokonce spolehlivější. Nejnovější studie doporučují testy v kombinaci IgA atTG a IgG DGP. Metody molekulární biologie, PCR, umožňují detekci specifických markerů HLA-DQ2/DQ8. Význam screeningu je především u nemocných s jiným autoimunitním onemocněním. Riziko asymptomatické celiakie, bez klinických příznaků, je např. u diabetiků 1.typu 10x vyšší než v běžné populaci, tj. incidence není 1:200, ale 1:20. Zvýšené riziko je u dalších autoimunit podobné (autoimunní thyreopatie, hepatitída, revmatoidní artritída a další).



Laktózový toleranční test je nepřímým měřením aktivity intestinální laktázy pro diferenciální diagnostiku malabsorpčního syndromu - laktózové nesnášenlivosti. Klasickým testem je hodnocení hladiny glykemie za 15, 30, 60 a 90 minut po perorálním podání 50g laktózy. Průkazem deficitu laktázy je vzestup glykemie o méně než 1 mmol/l. Laktózový test lze nověji hodnotit také dechovými testy a to jak H₂ testem, kdy ve vydechaném vzduchu stoupá koncentrace vodíku následkem bakteriálního rozkladu nerozštěpené laktózy v tlustém střevě, nebo detekcí uhlíku ¹³C po podání značené ¹³C-laktózy. Velmi přesné výsledky poskytuje kombinovaná metoda ¹³C/2H₂-laktózový test. Diagnostiku laktózové intolerance lze již také doplnit DNA stanovením specifického genotypu - varianta -13910 T/C. Diagnostiku laktózové intolerance lze provést i rychlým rapid-testem z duodenální biopsie, který je obdobný CLO-rapid testu pro diagnostiku *Helicobacter pylori*. Inkubační médium v komůrce pro vložení biopsie zahrnuje enzymy glukózo-oxidázu a peroxidázu, a chromogenní oxidačně-redukční substrát, doba provedení testu je 20 minut.

Akutní pankreatitida (AP) je onemocněním s variabilními klinickými projevy. Diagnostickou otázkou je časná diagnóza, stupeň závažnosti onemocnění, prognóza a monitorování průběhu léčby. U těžké formy AP lze rozpoznat dvě fáze. První fází je extenzivní zánět pankreatu, případně i nekrotizující, s následným rozvojem syndromu systémové odpovědi - SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome), který může vést k syndromu mnohočetné orgánové dysfunkce - MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome). V další fázi dochází k bakteriální infekci pankreatické nekrózy a prohloubení systémových komplikací, selhání ledvin, poruchám koagulace a dalším projevům. Laboratorní diagnostika zahrnuje stanovení celé řady specifických a nespecifických markerů, pankreatických enzymů a jejich prekurzorů v séru nebo v moči, zánětlivé markery, a markery imunitních reakcí - cytokiny, interleukiny, TNF. Nejčastěji je používána hladina celkové sérové α-amylázy, jejíž zvýšené hodnoty se mohou po 3–5 dnech od počátku onemocnění normalizovat. Hladina celkové α-amylázy je spolehlivě zvýšena ve 100% onemocnění akutní pankreatitidou, zvýšena je však i v 80% všech případů akutních bolestí břicha. 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%. Diagnostický přínos stanovení sérové hladiny pankreatické lipázy je podstatně vyšší než stanovení α-amylázy. Hladina lipázy v séru zůstává po atace akutní pankreatitidy zvýšena podstatně déle než hladina amylázy (popsána je zvýšená aktivita lipázy po 14 dnech). Vzhledem k tomu, že lipáza v séru má svůj původ především v buňkách pan-

kreutu, poskytuje její stanovení podstatně vyšší specifitu, srovnatelnou se specificitou pankreatického isoenzymu α -amylázy. Spolehlivým časným markerem akutní pankreatitidy je hladina pankreatické elastázy - 1, např. post-ERCP, a karcinomu pankreatu, kdy elastáza-1 (stanovená ELISA technikou) má ze všech pankreatických enzymů pro karcinom pankreatu nejvyšší specifitu i sensitivitu. Nejčasnějšími markery pro rychlou diagnostiku akutní pankreatitidy je detekce aktivačních peptidů TAP a CAPAP v moči. V posledních letech je studován jako marker bakteriální infekce pankreatické nekrózy a sepse sérový prokalcitonin.

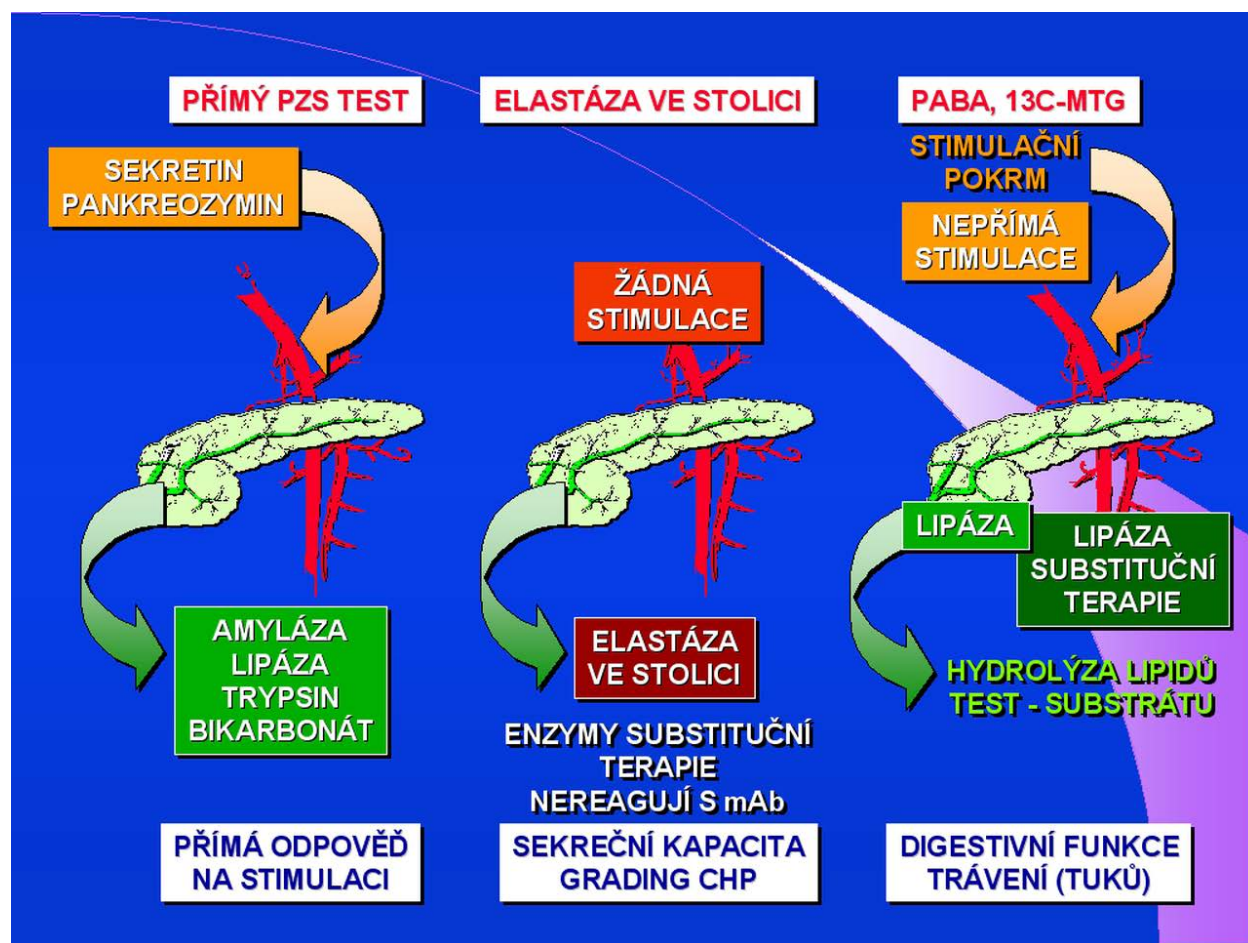


Trypsinogen, trypsinogen aktivační peptid (TAP) & karboxypeptidázový aktivační peptid (CAPAP)

Lze detekovat jak v séru, tak i v moči. Klinicky je používána nejčastěji hladina trypsinogenu-2 v moči, hodnoty 5600–10 000 μ g/l odpovídají těžké, závažné formě akutní pankreatitidy, hodnoty 130–890 μ g/l pak střední až mírné formě AP. V moči stanovujeme také produkt konverze trypsinogenu na aktivní trypsin - trypsinogen aktivační peptid - TAP. Klinicky signifikantní je zvýšená hladina TAP pro posouzení závažnosti akutní pankreatitidy, kdy hodnoty TAP v moči nad 15 nmol/l detekují středně těžkou pankreatitidu, hodnoty nad 40 nmol/l těžkou formu onemocnění. Aktivační peptid CAPAP je delší než ostatní peptidy uvolněné při aktivaci pankreatických proenzymů, je proto stabilnější a vhodnější pro laboratorní diagnostiku. Normální hladina CAPAP v séru metodou RIA je 0.8 nmol/l.

Chronická pankreatitida (CHP) je definována jako pokračující zánětlivé onemocnění pankreatu s charakteristickými, ireverzibilními, morfologickými změnami, způsobující charakteristické bolesti a trvalé ztráty funkce pankreatu. Zlatým standardem funkční diagnostiky je sekretin-pankreozyminový (sekretin-CCK) test, jako referenční test je používáno i kvantitativní stanovení tuků v 72-hodinovém sběru stolice. Sekretin-CCK test poskytuje ze všech dostupných testů nejpřesnější informace o sekrečních poměrech pankreatu. Přes nestandardnost jeho uspořádání je považován za "zlatý standard" funkčních testů pankreatu ke zhodnocení především pankreatické insuficience. Normální hodnoty závisí na způsobu stimulace, odběru i analýze duodenálního obsahu. Uvedené hodnoty jsou jednou z variant. Objem sekrece stimulované sekretinem 165-536 ml/hod, koncentrace HCO_3^- 9.8-39.7 mmol/hod, aktivita trypsinu 9.3-171 j/20 minut, aktivita amylázy 34-204 j/20 minut. V zahraniční literatuře nalezneme variantu - tzv. Lundhův test, kdy stimulace pankreatu je provedena standardizovaným Lundhovým pokrmem. Nejnovější studie kombinují endoskopii, stimulaci CCK nebo sekretinem, a analýzu koncentrace lipázy, bikarbonátu a dalších enzymů v pankreatic-

ké šťávě odebrané při endoskopii, nebo doporučují stanovení jiných markerů - např. zinku, který je stabilnějším analytem, oproti pankreatickým enzymům. Technologický rozvoj zobrazovacích metod v gastroenterologii nabízí v současné době kombinaci morfologického zobrazení a současně vyhodnocení některých funkčních aspektů vyšetřovaného orgánu. Metody ERCP a MRCP lze provádět při současné stimulaci i.v.podaným sekretinem, nebo cholecystokininem a vznikají tak moderní kombinované vyšetřovací postupy S-MRCP, MRCPQ nebo ePFT (endoskopický pankreatický funkční test).



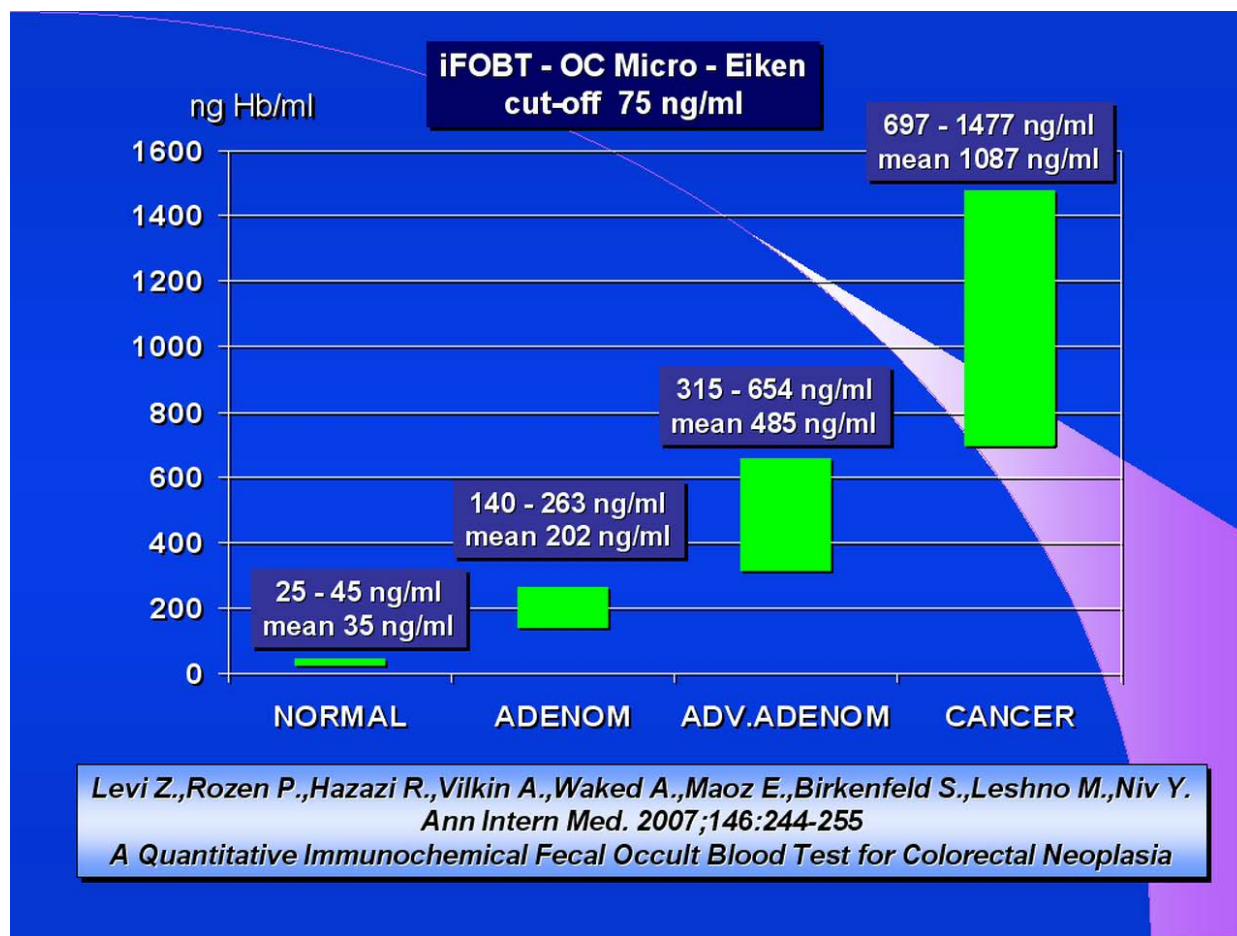
Lidská pankreatická elastáza 1 je syntetizována acinárními buňkami pankreatu. Enzym je secernován pankreatickou šťávou do duodena a během střevní pasáže není degradována proteinová sekvence zvolená pro immunochemickou detekci. Stanovení elastázy vykazuje proto vyšší dg. přínos, na rozdíl od chromogenní metody stanovení chymotrypsinu ve stolici. Referenční hodnoty jsou 200-500 µg/g stolice, hraniční pásmo je 100-200 µg/g, závažná pankreatická insuficience je stanovena při hodnotách < 100 µg/g stolice. Imunochemické stanovení elastázy-1 není ovlivněno pasáží tlustým střevem, substituční terapií ani jinými faktory, které ovlivňují enzymové stanovení chymotrypsinu ve stolici. Specifita metody je 93%, senzitivita dosahuje pro těžkou pankreatickou insuficienci hodnoty 100%, pro střední a lehké formy 87%. Tento test je běžně používán v pediatrii k průkazu cystické fibrózy se specificitou i senzitivitou téměř 100%. Falešná snížená hodnota může být způsobena zředěním (obsahem vody) při průjmu.

Principem **dechového testu s 13C-mixed triglyceridy** je štěpení tohoto substrátu pankreatickou lipázou. 13C-MTG substrát je triglycerid s 13C-označeným octanoátem v poloze 2, a steátem v poloze 1 a 3. Pankreatickou lipázou je triglycerid rozštěpen a 13C-octanoát je dále oxidován v játrech (beta-oxidace tuků) a ve vydechaném vzduchu je množství 13CO₂ stanoveno analyzátozem dechových testů. Klinický význam má 13C-MTG- test v diferenciální diagnostice malabsorpčního syndromu, jako funkční test exokrinní funkce pankreatu a pro dlouhodobé sledování nemocných s chronickou pankreatitidou. 13C dechové testy s mixed triglyceridy (MTG) nebo hioleinem patří mezi nepřímé funkční testy exokrinní funkce pankreatu a lze použít k monitorování úspěšnosti pankreatické substituční léčby.

Laboratorní diagnostika patologií tlustého střeva je zaměřena především na screening kolorektálních nádorů - KRCA, testy okultního krvácení ve stolici, screeningový - guajakový Haemoccult test - gFOBT, citlivější immunochemický test - iFOBT, a kvan-

titativní stanovení hemoglobinu ve stolici - qi-FOBT. Aktivitu zánětlivých onemocnění i tumorů lze monitorovat řadou markerů ve stolici, detekcí calprotectinu, lactoferrinu, M2-pyruvát kinázy a S100A12 proteinu. Rozvoj molekulární biologie umožňuje izolovat DNA ze vzorku stolice a stanovit řadu genetických markerů.

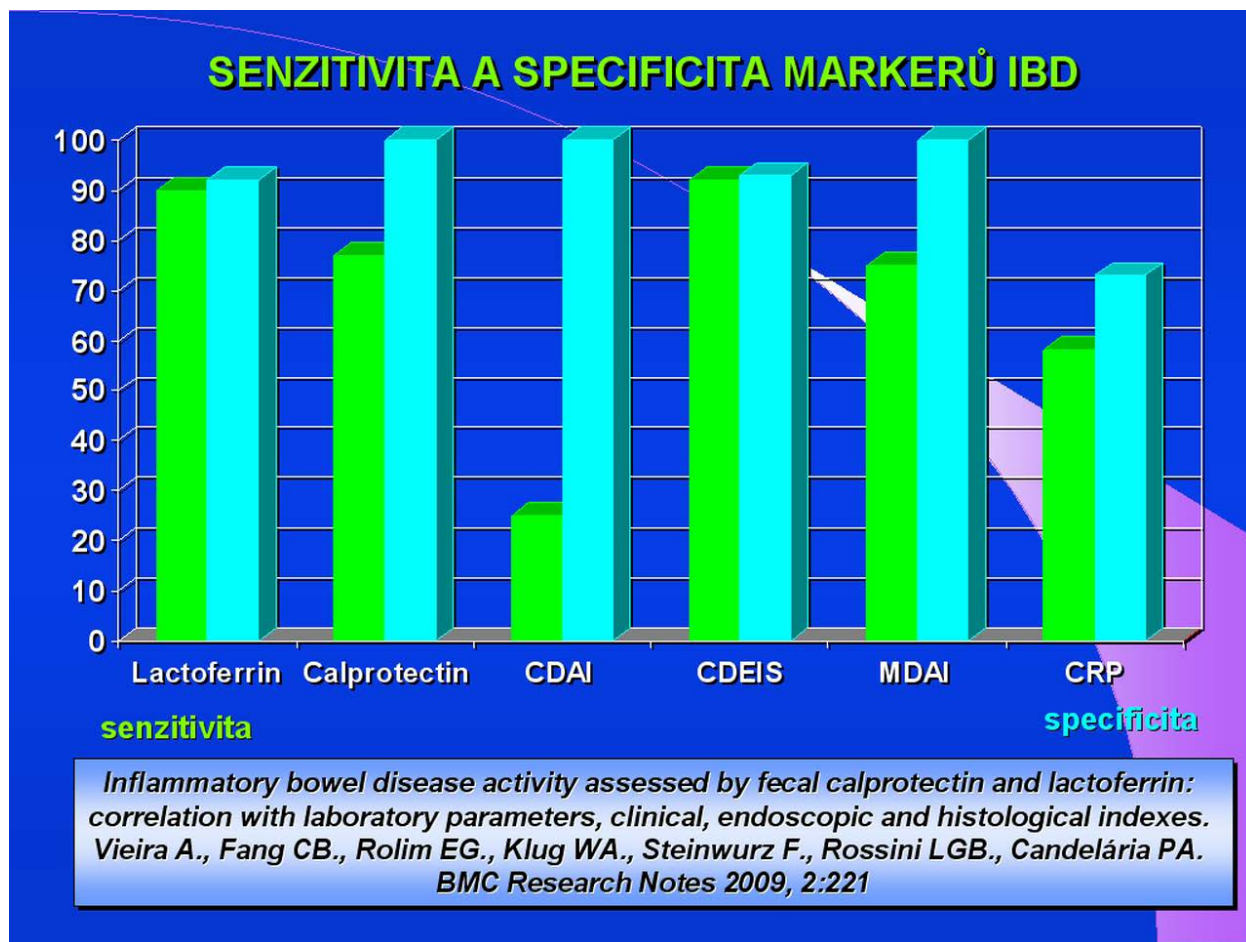
Riziko **karcinomu tlustého střeva** v populaci v České republice trvale narůstá, v roce 2010 dosahuje hodnot 80 na 100 tis. obyvatel a v evropském srovnání je nejvyšší hodnotou. Kolorektální karcinom (KRCA) vzniká malignizací adenomu sekvencí genetických mutací v průběhu průměrně deseti let a převaha nádorové tkáně je alespoň v počáteční fázi onemocnění lokalizována intraluminálně. Menší část kolorektálních karcinomů vzniká při přítomnosti rizikových faktorů, jako jsou nespecifické střevní záněty, familiární adenomová polypóza, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom a další hereditární syndromy. Již v asymptomatické fázi onemocnění karcinom (a adenomový polyp) intermitentně krvácí. Screeningové programy zahrnují především laboratorní metody detekce okultního krvácení - FOBT (Fecal Occult Blood Test) - TOKS (Test okultního krvácení ve stolici), detekci genetických markerů a ze zobrazovacích metod se ve screeningu uplatňují sigmoidoskopie, kolonoskopie, irigografie, virtuální počítačová kolografie s použitím výpočetní tomografie (CT) či magnetické rezonance (MR). Rozvoj molekulární biologie a aplikace typu PCR v rutinní diagnostice otevírají zcela nové trendy i ve screeningu tumorů GIT. Nejnovější screeningové metody jsou založeny na detekci specifických mutací metodami PCR nebo biochipovou technologií v DNA izolované ze vzorku stolice. Pro detekci nádorů tlustého střeva lze ze vzorku stolice stanovit mutace APC, K-ras, p53, mikrosatelitní instabilitu (MSI) a další genetické markery. Molekulárními markery kolorektálního karcinomu může být také detekce metylace specifických proteinů, např. vimentinu, a tyto DNA změny lze monitorovat jak ve stolici, tak i v séru nemocných s KRCA.



Doporučeným testem pro screeningový postup byl mnoho let pouze guajakový test - Haemoccult. Pseudoperoxidázová reakce hemoglobinu je základem testu, který obsahuje testovací médium (papírek) impregnované guajakovou pryskyřicí nebo u starších testů, derivátem benzidinu - např. dimethylbenzidinem (o-tolidin). Vzhledem k chemickému principu oxidační reakce jsou testy ovlivněny přítomností jiných oxidačních látek (vitamin C), přítomností hemoglobinu z potravy (maso, krev), falešně pozitivní výsledek může být způsoben i přítomností rostlinných peroxidáz (některé druhy kořenové zeleniny). V závislosti na uspořádání testu je proto doporučováno definované dietní omezení. Senzitivita gFOBT testů první generace je velmi nízká, pro

detekci karcinomu je v rozmezí 26 - 30%, gFOBT testy však mají téměř nulovou falešnou pozitivitu. Kvalitativní imunochemické testy iFOBT druhé generace mají senzitivitu dvojnásobnou, jejich specifita však výrazně klesla a falešná pozitivita je u některých testů téměř 25%. Třetí generace FOBT testů qiFOBT s kvantitativní detekcí Hb ve stolici umožňuje optimalizaci cut-off hodnoty zajistit senzitivitu i specifitu 90 - 95%. V současné době jsou proto doporučeny pro screening KRCA výhradně kvantitativní imunochemické testy - qiFOBT.

Calprotectin je kalcium vazebný protein s antimikrobiální aktivitou molekulové hmotnosti 36.5 kD složený ze dvou těžkých řetězců a jednoho lehkého řetězce, odvozený především od monocytů a neutrofilů. Calprotectin jako marker stanovený ve stolici vykazuje nižší variabilitu než hemoglobin a je vhodným ukazatelem při diagnostice i monitorování terapie střevních zánětlivých onemocnění - ulcerózní kolitidy a Crohnovy choroby, nebo nekrotizující enterokolitidy u dětí. Stanovení koncentrace ve vzorku stolice s cut-off hodnotou 30 mg/l vykazuje specifitu 97% a senzitivitu 100% pro diferenciální diagnostiku mezi akutní Crohnovou chorobou a syndromem dráždivého tračníku - IBS (irritable bowel syndrome). Calprotectin ve stolici je rovněž testován jako marker kolorektálního karcinomu. Mezi markery zánětlivých onemocnění, které lze stanovit ve stolici, patří i lactoferrin, který má vyšší senzitivitu než calprotectin.



Podrobnější informace o jednotlivých laboratorních metodách, provedení testů, odkazy na aktuální abstrakta NLM Medline a 100 barevných schemat a fotografií naleznete na on-line aktualizovaném GastroLabu na edukačním webu 1.lékařské fakulty - <http://glab.zde.cz>.