

Klinická biochemie gastrointestinálního traktu

**MUDr. Michaela Králíková
Biochemický ústav LF MU
E-mail: mkralik@med.muni.cz**

FUNKCE GIT

1. zajištění přívodu vody a živin - energie
 2. vyloučení nevstřebaných a odpadních látek
- plnit tyto požadavky umožňují:
 - *trávení = digesce* (štěpení živin na vstřebatelné látky)
 - *vstřebávání = absorpce* (jejich přechod do krve či lymfy)
 - *intraluminální transport* (umožňuje průběh výše uvedeného)

DIGESCE

- ***probíhá v ústní dutině, žaludku a tenkém střevě***
- **podle toho rozlišujeme 3 fáze trávení:**
- ***orální***
- ***gastrická***
- ***enterální***



- α - *amyláza* produkovaná slinnými žlázami štěpí škrob na oligosacharidy.
- Začíná emulgace tuků (emulzi stabilizují žlučové kyseliny).

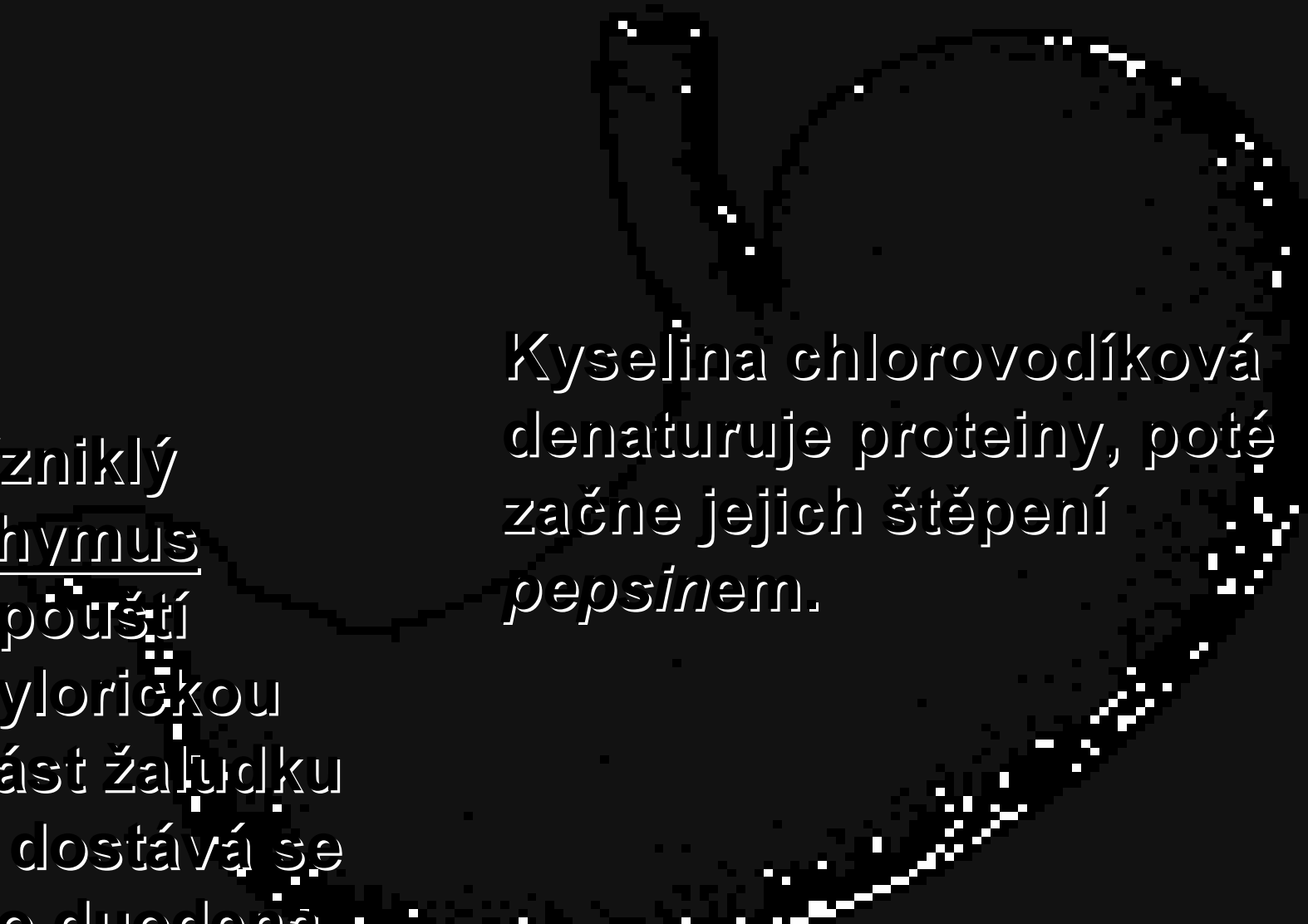
Sliny: 0,5 – 1,5 l/d, pH 5,7 – 6,4



DIGESCE

- ***probíhá v ústní dutině, žaludku a tenkém střevě***
- **podle toho rozlišujeme 3 fáze trávení:**
- ***orální***
- ***gastrická***
- ***enterální***





Vzniklý
chymus
opótiší
pylorická
část žaludku
a dostává se
do duodena.

Kyselina chlorovodíková
denaturuje proteiny, poté
začne jejich štěpení
pepsinem.

DIGESCE

- ***probíhá v ústní dutině, žaludku a tenkém střevě***
- **podle toho rozlišujeme 3 fáze trávení:**
- ***orální***
- ***gastrická***
- ***enterální***



Cestou ductus choledochus a ductus pancreaticus přitéká do doudena žluč a pankreatická šťáva.

Vysoký obsah hydrogenuhlíčanů neutralizuje žaludeční HCl a zajišťuje slabě alkalické pH optimum pro činnost enzymů:

α - amyláza - štěpí škrob na oligosacharidy

lipáza - štěpí triacylglyceroly na mastné kyseliny a monoacylglyceroly

cholesterolesteráza - štěpí estery cholesterolu na cholesterol a volnou mastnou kyselinu

fosfolipáza A₂ - štěpí fosfolipidy na lyzofosfolipidy a volnou MK

proteázy: trypsin, chymotrypsin, elastáza, karboxypeptidáza

Produkty štěpení tuků (80% monoacylglyceroly, volné MK, chol, glycerol, DAG) vytvoří společně se žlučovými kyselinami směsné micely.

Další trávení probíhá na povrchu sliznice tenkého střeva.

V kartáčovém lemu enterocytů se nacházejí:
 α -glukosidáza - hydrolýza oligosacharidů
disacharidázy (*laktáza, maltáza, izomaltáza, sacharáza, trehaláza*) - hydrolýza disacharidů
tri- a dipeptidázy - hydrolýza příslušných peptidů

Směsné micely se po styku s kartáčovým lemem rozpadnou.

ABSORPCE

- **v tenkém střevě**
 - živiny rozštěpené na základní stavební jednotky:
 - *monosacharidy
 - *směs volných aminokyselin, di- a tripeptidů
 - *produkty rozpadu směsných micel; v enterocytech pak dochází k resyntéze lipidů a tvorbě chylomikronů a VLDL
 - vitamíny, minerály
- **v tlustém střevě**
 - voda, tvorba formované stolice (50-150 ml/d, pH 5,9-8,5)

Testy funkce GIT

- **Testy digesce** –
produkce trávicích
šťáv, funkční testy
- žaludek
- pankreas
- **Testy absorpce** –
poruch vzniklých v
důsledku poškození
střevní sliznice nebo
nedostatečným
trávením
- střevo

ŽALUDEK



- Žaludeční šťáva
- bezbarvá, 2 - 3 l/d, pH 1 - 2,5
- účinné složky se tvoří ve speciálních buňkách žaludeční sliznice:
 - bb. krycí (parietální): HCl
 - bb. hlavní: pepsinogen, který je po styku s HCl aktivován na proteolytický *pepsin*
- další složky: mucin (hlen) ← mucinózní bb.
 - vnitřní faktor (glykoprotein zajišťující vstřebávání vit. B₁₂; komplex B₁₂ - IF se vstřebává v ileu) ← krycí bb.

ŽALUDEK



- **Stimulátory žaludeční sekrece**
- **gastrin - oligopeptid tvořený ve sliznici prepylorické části žaludku a duodena a G - buňkami pankreatu. K tělu žaludku se dostává krví.**
- **histamin**
- **alkohol, kofein, nikotin**

VYŠETŘENÍ ŽALUDEČNÍ SEKRECE

- *gastrofibroskopie*



- **PENTAGASTRINOVÝ TEST**

- stanovení výdeje HCl

- Pacient 12 hod před testem nejí, nepije a nekouří, 24 hod nesmí užívat antisekretorika, spazmolytika, antacida.

1. odsátí veškerého žaludečního obsahu (tento se nevyšetřuje!, pouze popíše), následuje vlastní test
2. kontinuální odsávání žaludečního sekretu po dobu 60' (→ stanovení BAO)
3. s. c. podání pentagastrinu (syntetický analog gastrinu) 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hmotnosti
4. opět 60' odsávání žaludečního obsahu, který se dělí do 4 porcí po 15' (→ stanovení MAO, PAO)

- V laboratoři se změří objemy a koncentrace HCl (titrací NaOH) a vypočítá se výdej HCl za daný časový úsek:

- $\text{výdej [mmol/hod]} = V \text{ [l/hod]} \cdot c_{\text{HCl}} \text{ [mmol/l]}$

- Hodnotí se:

- **BAO** (*basal acid output*) - množství HCl vyloučené během 1. hod před stimulací

norma = 1 - 5 mmol/hod

- **MAO** (*maximal acid output*) - výdej HCl po stimulaci, během 1. hod po podání pentagastrinu


norma = 10 - 25 mmol/hod

- **PAO** (*peak acid output*) - dvojnásobek součtu výdeje HCl ve 2 . po sobě následujících 15' vzorcích s nejvyšší hodnotou

norma = 10 - 40 mmol/hod



- **Nálezy:**
 - ***hyperchlorhydrie***
 - **gastrinom** (Zollinger - Ellisonův sy; nádor G - buněk pankreatu produkujících gastrin, přítomna hypersekrece žaludeční šťávy, recidivující peptické vředy a průjem způsobený kyselou reakcí střevního obsahu)
 - **vředová choroba duodena**

 - ***hypochlorhydrie***
 - **pokročilý Ca žaludku** (u časného spíše normo- či hyperacidita)
 - **atrofická gastritida**
 - **perniciózní anémie**
- 
- **INZULINOVÝ TEST**
 - podobné provedení jako pentagastrinový, jako stimulus se podá s. c. inzulín 0,2 j./kg hmotnosti
 - nutné sledování pacienta!

DALŠÍ VYŠETŘENÍ ŽALUDKU

- **PEPSINOGEN /S**
 - vředová choroba duodena - N, ↑
 - Ca žaludku - N, ↓
 - atrofická gastritida, perniciózní anémie - ↓
- **VNITŘNÍ FAKTOR /ŽALUDEČNÍ ŠTÁVA**
 - fyziologické hodnoty 5 - 25 kU/hod
 - ↓ při perniciózní anémii
- **GASTRIN /S**
 - referenční hodnoty 5 - 115 ng/l
 - ↑ při gastrinomu, atrofické gastritidě a následkem léčby blokátory H₂ – receptorů

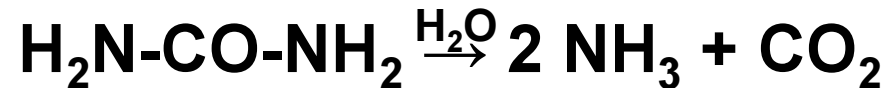


DALŠÍ VYŠETŘENÍ ŽALUDKU



- **PRŮKAZ INFEKCE HELICOBACTER PYLORI**

- **G- tyčinka s ureázovou aktivitou**



- **mikrobiologický průkaz v bioptických vzorcích žaludeční sliznice**
- **průkaz protilátek /S**

- **ureázový test:** v bioptických vzorcích (změna barvy acidobazického indikátoru)
dechový test (p. o. urea s ^{13}C nebo ^{14}C , detekce $^*\text{CO}_2$ v dechu)

Pozn.: ^{13}C DECHOVÉ TESTY V GASTROENTEROLOGII

- **VÝHODY IZOTOPU ^{13}C**
- STABILNÍ IZOTOP UHLÍKU
- NENÍ RADIOAKTIVNÍ
- VYSKYTUJE SE BĚŽNĚ V PŘÍRODĚ

- **NEVÝHODY IZOTOPU ^{13}C**
- TVOŘÍ CCA 1,1 % UHLÍKU V LIDSKÉM TĚLE

Duodenální šťáva

- žlutá tekutina, pH = 7,5 - 8
- tvořena ze 3 zdrojů:
 1. **pankreatický sekret** – 300 - 1 500 ml/d, pH 7,5 - 8,8
 - * vysoký obsah HCO_3^-
 - * aktivní α -amyláza
 - * lipáza se aktivuje stykem se žlučovými kyselinami
 - * proteolytické enzymy ve formě proenzymů (trypsinogen, chymotrypsinogen, prokarboxypeptidáza, proelastáza)
 - * *trypsin* je aktivován enterokinázou tenkého střeva a následně aktivuje zbylé peptidázy
 2. **žluč** – 250 - 1 100 ml/d, pH 6,2 - 8,5
 - * vysoký obsah HCO_3^-
 - * žlučové kyseliny
 - * lipidy (cholesterol, fosfolipidy)
 - * konjugovaný bilirubin
 3. **produkt vlastních duodenálních žlázek**

Pozn.: proteolytické enzymy = proteázy = peptidázy

- *exo*peptidázy
- odštěpují jednotlivé aminokyseliny z N -
nebo C - konce
- pankreatické
- aminopeptidázy, karboxypeptidázy

- *endo*peptidázy
- štěpí na daných místech uvnitř molekuly
- žaludeční, pankreatické
- pepsin, trypsin, chymotrypsin

PANKREAS



- **Indikace laboratorního vyšetření:**
- **akutní pankreatitida - průkaz poškození buněk**
- **chronická pankreatitida - v popředí porucha zevně sekretorické funkce, druhotně dochází k poruše absorpce, hlavně lipidů**
- **Ca pankreatu - laboratorní nález je netypický**

AKUTNÍ PANKREATITIDA



- **akutní, život ohrožující onemocnění**
- **aktivace enzymů přímo v produkujících buňkách s jejich následnou destrukcí**

- **nálezy**
- šok (tkáňová hypoxie, lacMAc atd.)
- ↑ glc
- ↓ Ca
- laboratorní známky cholestázy, pokud příčinou litiáza

Vyšetření u akutní pankreatitidy

- **α - AMYLÁZY (AMS)**
- fyziologická hodnota / S = 1 - 5 μ kat/l
- \uparrow na 5 i více násobek za 3 -12 hod po atace, normalizace u nekomplikovaného průběhu do 3 dnů
- \uparrow i při recidivě chronické pankreatitidy, perforaci peptického vředu a žlučníku, ileu, disekujícím aneurysmatu aorty, zánětech slinných žláz, renální insuficienci, intrapleurálních procesech; dif. dg. **stanovením pankreatického izoenzymu**
- 0,2 - 1 μ kat/l



Vyšetření u akutní pankreatitidy

- ***PANKREATICKÁ LIPÁZA***
- fyziologická hodnota / S = do 3 μ kat/l
- aktivita paralelní s aktivitou AMS
- není produkována slinnými žlázami a ovlivněna renální insuficiencí → specifitější než celkové AMS

- ***TRYPSIN***
- fyziologická hodnota /P okolo 272 μ g/l



CHRONICKÁ PANKREATITIDA



- **při akutním vzplanutí nálezy akutní pankreatitidy**
- **v klidovém období postupný zánik parenchymu → zhoršení sekreční funkce → poruchy digesce → absorpce**
- **při destrukci Langerhansových ostrůvků manifestace DM**

Vyšetření u chronické pankreatitidy

• **SEKRETIN - PANKREOZYMINOVÝ TEST**

- sekretin stimuluje tvorbu pankreatické šťávy
- pankreozymín = cholecystokinín zvyšuje sekreci pankreatických enzymů a vyvolává kontrakce žlučníku

- 1) pacient nalačno
- 2) zavedení dvojcestné sondy (horní otvor na odsávání žaludeční šťávy, dolní v duodenu)
- 3) odčerpání duodenálního obsahu
- 4) i. v. sekretin 1 j./kg hmotnosti
- 5) 1. sběrné období; stanoví se objem a HCO_3^-
- 6) i. v. pankreozymín 1 j./kg hmotnosti
- 7) 2. sběrné období; stanoví se trypsin, amyláza, příp. lipáza

- sběrná období trvají 30 – 60', dělí se na kratší úseky

- **fyziologické hodnoty:**
- **objem > 100 ml/hod**
- **HCO_3^- 10 - 40 mmol/hod \approx 74 - 121 mmol/l**
- **trypsin 55 - 335 U/min**
- **amyláza 140 - 620 U/min**
- **↓ všech parametrů**
- **↓ i při cystické fibróze a stavech po resekci pankreatu**



Vyšetření u chronické pankreatitidy

- **NEPŘÍMÉ FUNKČNÍ TESTY PANKREATU**
- **průkaz produkce některého z pankreatických enzymů nepřímo štěpením příslušného substrátu**
- **substrát je podán p. o., štěpen enzymem, účinná látka se vstřebá a je vyloučena ledvinami**
- **podmínkou provádění a hodnotitelnosti je neporušená absorpce a renální funkce**

NEPŘÍMÉ FUNKČNÍ TESTY PANKREATU

- **NBT - PABA - test**
- substrát = N-benzoyl-L-tyrosyl-p-aminobenzoová kys. (acid); *chymotrypsin* odštěpí PABA
- substrát se podá s pokusnou snídaní, PABA (konjugovanou s kys. glukuronovou) stanovíme po 3 hod v séru a v 6hod sběru moči
- fyziologicky $PABA / S > 25 \mu\text{mol/l}$
- $PABA / U > 30\%$ podané dávky
- pozorujeme ↓
- ↓ i při Ca pankreatu a po resekci



NEPŘÍMÉ FUNKČNÍ TESTY PANKREATU

- **Test s fluoresceindilaurátem (laurát – C₁₂)**
- = substrát; štěpen cholesterolesterázou
- fluorescein konjugovaný s kys. glukuronovou se prokazuje v 10hod sběru moči

DALŠÍ TESTY

- *trypsin /S* po stimulaci stravou (↓)
- *chymotrypsin / stolice* (↓)
- *elastáza / stolice* (<100 μg/g, ELISA)
- odpad tuků stolicí (↑)
- laktoferin / duodenální šťáva (↑)



DECHOVÉ TESTY FUNKCE PANKREATU

- používané substráty: triglyceridy, estery cholesterolu, acyl-Tyr-PABA
- např. MTG test (mixed triglyceride)
- stejný princip jako nepřímé funkční testy (štěpení substrátu lipázou, cholesterolesterázou nebo chymotrypsinem)
- dokazuje se $^{13(14)}\text{CO}_2$, resp. změna poměru $^{13(14)}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$

PORUCHY ABSORPCE = MALABSORPCE

- vlastní narušení procesu absorpce:
- celiakie (glutenová enteropatie), tropická sprue, regionální enteritida, střevní lymfangiektázie, m. Whipple, herpetiformní dermatitida, potravinové alergie
- následkem maldigesce:
- atrofická gastritida, chronická pankreatitida, nedostatek žlučových kyselin (obstrukce, zvýšená dekonjugace následkem bakteriální kolonizace tenkého střeva)
- komplexní
- záněty střevní sliznice
- izolované
- deficit laktázy, chybění vnitřního faktoru)
- nejčastější je a nejprve se objevuje malabsorpce lipidů³³

Testy na poruchu absorpce

- se většinou dělí podle substrátu:
- porucha absorpce tuků
- sacharidů
- aminokyselin
- prvků
- vitamínů

Testy na poruchu absorpce lipidů

- **Stanovení tuků ve stolici**
- **3 - 5 denní sběr stolice**
- **fyziologicky ≤ 5 g/den při příjmu 60 – 100 g/den**
- **pouze popisován ve všech publikacích**

- **Dechový test po zátěži značeným triacylglycerolem (MTG test)**
- **nejčastější**
- **podá se TAG značený ^{14}C nebo ^{13}C**
- **je - li rozštěpen, vstřebán a metabolizován, objeví se $^*\text{CO}_2$ v dechu**

Testy na poruchu absorpce lipidů

- **Test s vitamínem A**
- podá se snídaně obsahující tuky + 600 kU vitamínu A
- odběr krve těsně po snídani a za 3, 5 a 7 hod
- stanovení koncentrace vitamínu A
- fyziologické hodnoty: nalačno = 1,4 - 2,3 $\mu\text{mol/l}$
- po zátěži > 17 $\mu\text{mol/l}$

- **β - karoten / S**
- fyziologické hodnoty 0,7 - 2,9 mg/l
- mírný pokles 0,3 - 0,7 mg/l
- těžká malabsorpce < 0,3 mg/l

Testy na poruchu absorpce

- se většinou dělí podle substrátu:
- porucha absorpce tuků
- sacharidů
- aminokyselin
- prvků
- vitamínů

Testy na poruchu absorpce sacharidů

- **Xylózový test**

- pacient nalačno ≥ 12 hod, vyloučit poruchu renální funkce
- po vymočení podání 25 g xylózy p. o. (děti 5 g) v 0,5 (0,1) l vody nebo neslazeného čaje
- během prvních 2 hod opět vypít 0,5 (0,1) l vody nebo čaje

- xylóza se vstřebává v proximálním jejunu

- stanovení xylózy / S za 1 a 2 hod norma > 2 mmol/l
> 300 mg/l
1 hod děti > 200 mg/l
/ U (5hod sběr) norma > 20%
podané xyl
(děti i dospělí)

- Mr = 148

Testy na poruchu absorpce sacharidů

- **Disacharidové toleranční testy**
- → defekt *disacharidáz* kartáčového lemu:
- *laktáza*: lac → gal + glc
- *sacharáza*: sac → glc + fru

- *maltáza*: mal → glc + glc
- *izomaltáza*: → glc + glc
- *trehaláza*: tre → glc + glc

Disacharidové toleranční testy

- **normálně rozštěpení disacharidu, vstřebání monosacharidu a ↑ glykémie**
- **při deficitu je disacharid metabolizován bakteriemi tlustého střeva**

- **možnosti hodnocení:**
 - **podle ↑ glykémie**
 - **měření vodíku v dechu (je odrazem bakteriální přeměny sacharidu)**
 - **měření pH stolice (< 5,5 při metabolizaci bakteriemi)**

Disacharidové toleranční testy

- **Provedení laktóзовého zátěžového testu**
- **pacient nalačno ≥ 12 hod**
- **odběr krve**
- **podání 50 g laktózy p. o. ve 400 ml vody (děti od 2 let 4 g/kg)**
- **stanovení glc /P po 30, 60, 90, 120´**
- **další den navazující test : 25 g glc + 25 g gal, ostatní shodné**

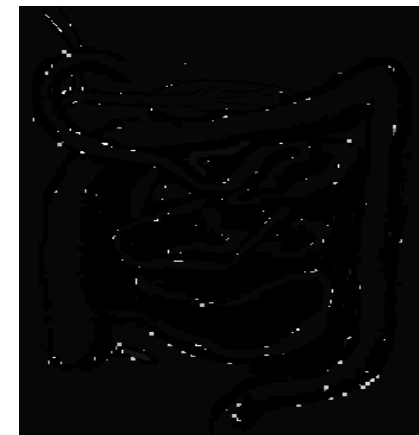
- **normálně \uparrow glc /P o $> 1,1$ mmol/l**

- **u deficitu nižší \uparrow po podání laktózy, ne monosacharidů a poměr vzestupu $< 0,4$**

- **falešně pozitivní u DM a poruchy glukózové tolerance**

Další testy na deficit disacharidáz

- dechový test po zátěži laktózou značenou ^{13}C
- exaktní dg. - histochemický průkaz enzymů v biopsii střevní sliznice



Testy na poruchu absorpce

- se většinou dělí podle substrátu:
- porucha absorpce tuků
- sacharidů
- aminokyselin
- prvků
- vitamínů

Poruchy absorpce aminokyselin

- součást dědičných chorob
- ← porucha transportu aminokyseliny / aminokyselin
- současně porucha transportu téže aminokyseliny / aminokyselin v ledvinných tubulech, která v popředí klinických symptomů
- cystinurie – porucha resorpce Cys, Lys, Arg, Orn; klinicky urolitiáza

Testy na poruchu absorpce

- se většinou dělí podle substrátu:
- porucha absorpce tuků
- sacharidů
- aminokyselin
- prvků
- vitamínů

- **prokazuje se *zátěžovými testy***
 - **nejčastěji Ca, Fe**
1. **podání prvku p. o.**
 2. **v daném časovém intervalu / intervalech
změření hladiny prvku v séru**

Testy na poruchu absorpce

- se většinou dělí podle substrátu:
- porucha absorpce tuků
- sacharidů
- aminokyselin
- prvků
- vitamínů

Porucha absorpce vitamínu B₁₂

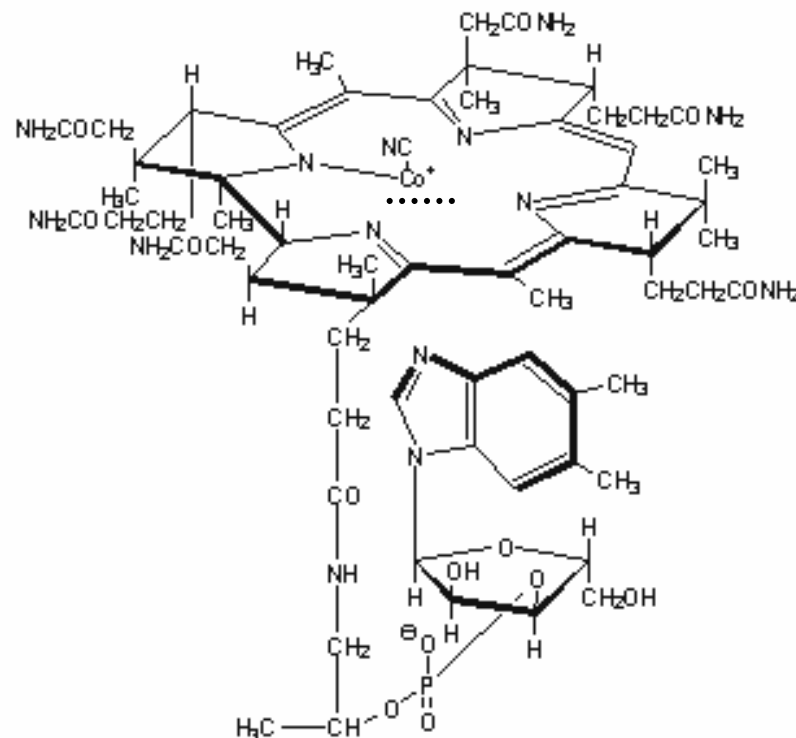
- **Schillingův test**
- **indikace k provedení:**
- **↓ B₁₂ /S**
- **podezření na chronickou atrofickou gastritidu**
(nedostatečná tvorba vnitřního faktoru – intrinsic factor, IF)
- **podezření na onemocnění terminálního ilea** (kde se vstřebává komplex B₁₂-IF)
- **perniciózní anémie** (důsledek ↓ B₁₂)

Schillingův test bez *B₁₂

1. stanovení výchozí hodnoty B₁₂ /S
 2. p.o. 1 mg B₁₂
 3. stanovení B₁₂ /S po 4 hod
 4. totéž za současného podání 35 mg IF
- normálně B₁₂ /S = 220 – 1130 ng/l
 - atrofická gastritida - ↓, po podání IF ↑ k normě
 - choroby terminálního ilea - ↓ i po podání IF

Schillingův test s $^{*}\text{B}_{12}$

1. podání B_{12} značeného ^{57}Co nebo ^{58}Co
2. stanovení $^{*}\text{B}_{12}$ v moči za 24 hod



Testy na porušenou intestinální permeabilitu – vyšetření při exsudativní enteropatii

- prokazujeme průnik látek (bílkovin) do lumina GIT v důsledku zvýšené intestinální permeability
- následkem průniku nacházíme hypoalbuminemii (podobný obraz jako u nefrotického sy)
- provedení:
 1. i. v. podání albuminu, dextranu či polyvinylpyrolidonu značeného ^{51}Cr , ^{59}Fe nebo ^{131}I
 2. měření radioaktivity ve stolici
- nebo stanovení střevní clearance α_1 -antitrypsinu



Střevní clearance α 1-antitrypsinu (α 1-proteinázového inhibitoru, RAF)

- **bez speciální přípravy pacienta**
- **72 hod sběr stolice (skladování -4°C nebo -20°C), v ní stanovení koncentrace AAT**
- **každý den stanovení AAT /S**

- **clearance = $\frac{V \cdot F}{S}$**

V – Ø objem stolice, ml/d

F – Ø AAT /stolice, mg/d

S – Ø AAT /S, mg/d

- **normálně < 35 ml/d**

OKULTNÍ KRVÁCENÍ

- = chemický průkaz krve ve stolici při normálním makroskopickém vzhledu

- 2 metody:

- ***chemický průkaz hemu*** (peroxidázová aktivita

chromogen bezbarvý $H_2A + H_2O_2 \rightarrow$ chromogen barevný $A + 2 H_2O$;

3 dny před vyšetřením nejíst potraviny obsahující krev a preparáty železa!

imunochemický průkaz globinu (druhově specifické → bez nutnosti diety)

- **vyšetření provádíme 3 dny po sobě, protože krvácení bývá intermitentní**

OKULTNÍ KRVÁCENÍ

- budoucnost?
- **DNA panely**
- **vyšší senzitivita**
- **neinvazivní - analýza stolice**
- **záchyt i nekrvácejících tumorů**