

Klinická biochemie gastrointestinálního traktu

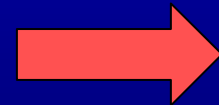
**MUDr. Michaela Králíková
Biochemický ústav LF MU
E-mail: mkralik@med.muni.cz**

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)

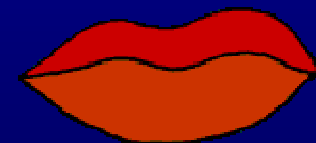
DIGESCE

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



- α - **amyláza** (α -1,4-glukosidáza) produkovaná slinnými žlázami štěpí **škrob, resp. glykogen na oligosacharidy**.
- Začíná **emulgace tuků** (emulzi stabilizují žlučové kyseliny).


Sliny: 0,5 – 1,5 l/d, pH 5,7 – 7,0



DIGESCE

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





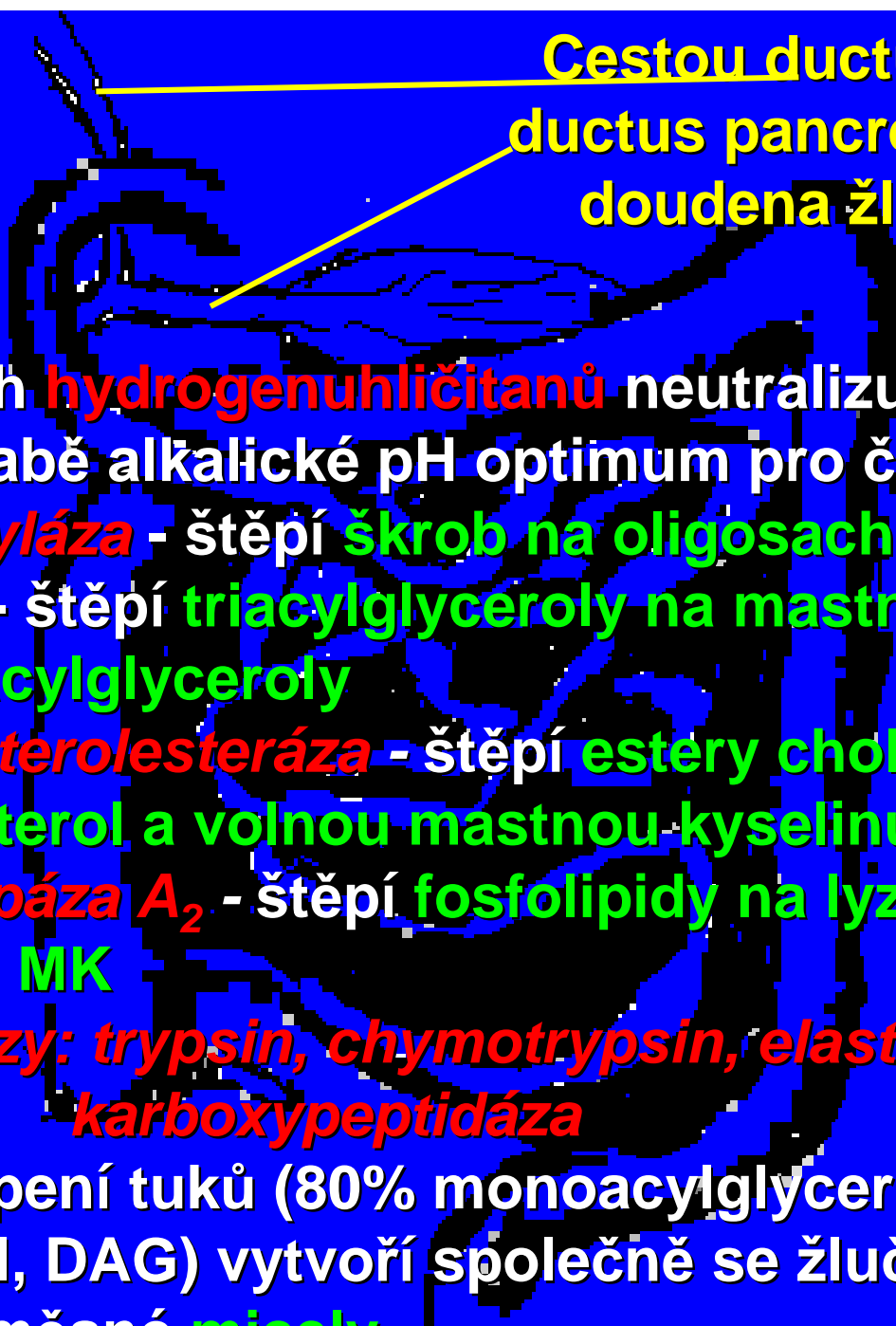
Vzniklý
chymus
opouští
pylorickou
část žaludku
a dostává se
do duodena.

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 **hydrogenuhličitanů** neutralizuje žaludeční HCl a zajišťuje slabě alkalické pH optimum pro činnost enzymů:

α - amyláza - štěpí škrob na oligosacharidy (hl. maltózu)

lipáza - štěpí triacylglyceroly na mastné kyseliny a monoacylglyceroly

cholesterolesteráza - štěpí estery cholesterolu na cholesterol a volnou mastnou kyselinu

fosfolipáza A_2 - 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 1,4-glukosidáza - hydrolyza oligosacharidů
disacharidázy (laktáza, maltáza, izomaltáza, sacharáza, trehaláza) - hydrolyza disacharidů
tri- a dipeptidázy - hydrolyza příslušných peptidů

Směsné micely se po styku s kartáčovým lemem rozpadnou.

ABSORPCE

- **v tenkém střevě**
 - živiny rozštěpené na základní stavební jednotky:
 - *monosacharidy (glc, gal, fru)
 - *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 –
poruchy vzniklé v
důsledku poškození
střevní sliznice nebo
nedostatečným
trávením
 - střevo

ŽALUDEK



- Žaludeční šťáva
- bezbarvá, 2 - 3 l/d, pH 1 – 3,0
- 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)
← parietální 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*
- **pH-METRIE**
- pH elektroda zavedená do žaludku
- monitoring změny pH v průběhu 24 hodin



VYŠETŘENÍ ŽALUDEČNÍ SEKRECE

- **PENTAGASTRINOVÝ TEST**

- Dříve používané 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:


- výdej [mmol/hod] = V [l/hod] · c_{HCl} [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

- Nálezky:
 - **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



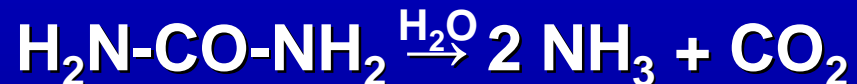
- **PEPSINOGEN /S**
 - vředová choroba duodena - N, ↑
 - Ca žaludku - N, ↓
 - atrofická gastritida, perniciózní anémie - ↓
- **VNITŘNÍ FAKTOR /ŽALUDEČNÍ ŠŤÁVA**
 - fyziologické hodnoty 5 - 25 kU/hod
 - ↓ při perniciózní anémii
- **GASTRIN /S**
 - referenční hodnoty 5 - 115 ng/l
 - ↑ při gastrinomu, atrofické 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 ¹³C nebo ¹⁴C, detekce *CO₂ 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 7,4 - 8,8
 - * vysoký obsah HCO_3^- (35 mmol/l)
 - * 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^- (30 mmol/l)
 - * *žlučové kyseliny*
 - * lipidy (cholesterol, fosfolipidy)
 - * konjugovaný bilirubin
 3. produkt vlastních duodenálních žlázek

Pozn.: proteolytické enzymy = proteázy = peptidázy

- exopeptidázy
- odštěpují jednotlivé aminokyseliny z N - nebo C - konce
- pankreatické
- aminopeptidázy, karboxypeptidázy

- endopeptidázy
- štěpí na daných místech uvnitř molekuly
- žaludeční, pankreatické
- pepsin, trypsin (-COOH Lys, Arg), chymotrypsin (Leu, Phe, Try, Tyr)

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,P < 1,67 μ kat/l
- \uparrow na 5 i více (100) 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
- přechází do moče \rightarrow stanovení aktivity /U < 7,67 μ kat/l

Vyšetření u akutní pankreatitidy

- **PANKREATICKÁ LIPÁZA**
- fyziologická hodnota / S = do 1 nebo 3 $\mu\text{kat/l}$ (dle metody)
- aktivita paralelní s aktivitou AMS
- není produkována slinnými žlázami a ovlivněna renální insuficiencí → specifičtější než celkové AMS
- **TRYPSIN**
- fyziologická hodnota /P okolo 272 $\mu\text{g/l}$



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 (dříve)**

- 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 lipidů³⁴

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

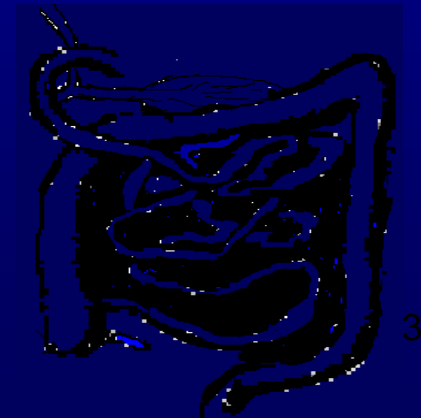
- normálně rozštěpení disacharidu, vstřebání monosacharidu a ↑ glykémie
- při deficitu je disacharid metabolizován bakteriemi tlustého střeva
- **možnosti hodnocení:**
 - podle ↑ glykémie
 - měření vodíku v dechu (je odrazem bakteriální přeměny sacharidu)
 - měření pH stolice (< 5,5 při metabolizaci 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 těže 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

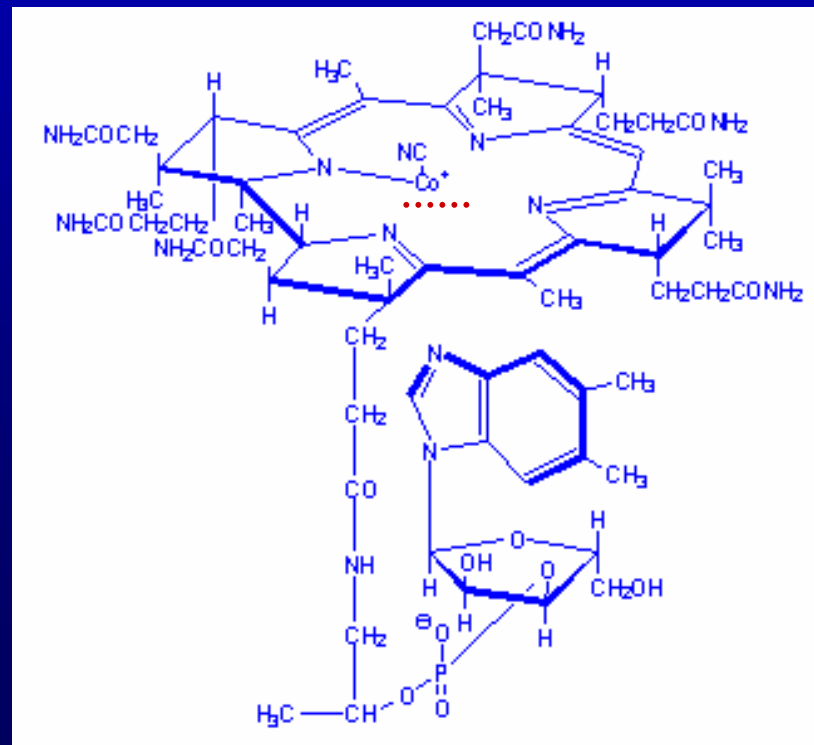
- **Schillingův test**
- indikace k provedení:
 - ↓ B₁₂ /S
 - podezření na autoimunitní poruchu (PL x IF, parietálním bb. nebo „blokující“)
 - podezření na chronickou atrofickou gastritidu (nedostatečná tvorba vnitřního faktoru – intrinsic factor, IF)
 - podezření na onemocnění terminálního ilea (kde se vstřebává komplex B₁₂-IF)
 - megaloblastová (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 $^{*}\text{B}_{12}$

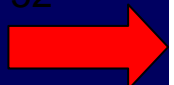
1. podání B_{12} značeného ^{57}Co nebo ^{58}Co
2. stanovení $^{*}\text{B}_{12}$ v moči za 24 hod



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

LAMA-test

- vyšetření intestinální permeability
- podání testovacího roztoku obsahujícího **laktulózu** a **manitol**
- 6 hod sběr moči
- stanovení koncentrace laktulózy a manitolu /U

OKULTNÍ KRVÁCENÍ

- = chemický průkaz krve ve stolici při normálním makroskopickém vzhledu
- 2 metody:
- *TOKS*
- *iFOBT*

OKULTNÍ KRVÁCENÍ

- **TOKS** (**T**est **o**kultního **k**rvácení **s**tandardizovaný)
- *screening*
- *chemický průkaz hemu:*
- peroxidázová aktivita
chromogen bezbarvý $H_2A + H_2O_2 \rightarrow$ chromogen barevný $A + 2 H_2O$
- cut-off pozitivního výsledku = 5 mg Hb /g stolice
- 3 dny před vyšetřením nejíst potraviny obsahující krev a preparáty železa
- krvácení intermitentní \rightarrow vyšetření 3 dny po sobě

OKULTNÍ KRVÁCENÍ

- ***iFOBT*** (***i***mmunochemical ***F***ecal ***O***ccult ***B***lood ***T***est)
- ***imunochemický průkaz globinu***
- **druhově specifické → bez nutnosti diety**
- **cut-off pozitivního výsledku < 0,1 mg Hb /g stolice**

OKULTNÍ KRVÁCENÍ

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