

# Amyláza

**$\alpha$ -amyláza**<sup>[1] [2] [3] [4] [5] [6] [7] [8] [9] [10]</sup> (**AMS**,  $\alpha$ -1,4-glukan-4-glukan-hydroláza, EC 3.2.1.1) hydrolyzuje  $\alpha$ -1-4-glykosidovou vazbu; pH optimum  $\alpha$ -amylázy je mezi 7,0–7,2. V organismu se vyskytuje ve dvou formách – jako slinný a pankreatický izoenzym podle orgánového původu. Obě izoformy AMS se od sebe liší cukernou složkou a lze je odlišit elektroforeticky, či podle precipitace pomocí speciálního lektinu nebo protilátky<sup>[11]</sup>.  $\alpha$ -amyláza je tvořena v acinárních buňkách pankreatu a hromadí se v zymogenních granulech. Do střevního lumen se dostává ve formě pankreatického sekretu (pankreatické šťávy) spolu s dalšími trávicími enzymy. Za fyziologických podmínek není molekula enzymu absorbována střevním povrchem a sérová hladina je nízká, odpovídající aktivitě enzymu uvolněného do cirkulace přímo ze žlázových buněk, resp. lymfatickou drenáží. Molekulová hmotnost  $\alpha$ -amylázy je 55 000. Z cirkulace je  $\alpha$ -amyláza eliminována v ledvinách glomerulární filtrací.

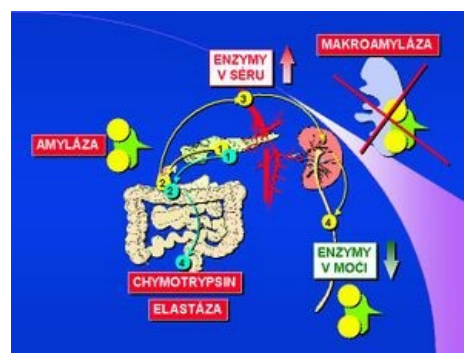


Pankreatická amyláza

Makroforma enzymu (*makroamyláza*)<sup>[12] [13] [14] [15] [16]</sup> vzniká vazbou enzymu na některé bílkoviny krevního séra, především imunoglobuliny, cirkulující imunokomplexy nebo jiné glykoproteiny. Makroforma enzymu má podstatně vyšší molekulovou hmotnost (od 150 000 do 2 000 000) a není proto eliminována glomerulární filtrací. Pro klinickou diagnostiku se stanovuje hladina  $\alpha$ -amylázy v séru, v moči a vypočítává se index clearance amylázy/kreatininu.

## Laboratorní stanovení koncentrace $\alpha$ -amylázy

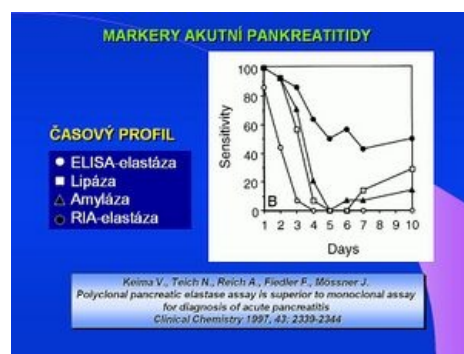
Laboratorně lze stanovovat koncentraci proteinu imunologickými technikami nebo enzymovou katalytickou koncentrací pomocí specifických substrátů. Při stanovení jak hmotnostní, tak katalytické koncentrace enzymu je nutno zvažovat přítomnost inhibitorů v séru a vznik makroform enzymů. Běžně používané stanovení aktivity  $\alpha$ -amylázy je založeno na štěpení chromogenního substrátu. Starší postupy, které používaly deriváty přirozeného substrátu, škrobu, byly obtížné standardizovatelné a již se nepoužívají. Současné syntetické substráty jsou odvozeny od maltózy, jako chromogen je nejčastěji používán 4-nitrofenylfosfát. Stanovení izoenzymů  $\alpha$ -amylázy je umožněno inhibicí jednoho z obou izoenzymů specifickou monoklonální protilátkou.



Změny hladiny amylázy

## Celková $\alpha$ -amyláza v diagnostice

Zvýšená hladina celkové aktivity  $\alpha$ -amylázy je prokazatelná u celé řady onemocnění. Nejčastějším diagnostickým důvodem je podezření na akutní pankreatitidu. Hladina celkové  $\alpha$ -amylázy je sice 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  $\alpha$ -amylázy** (*P-amylázy*), jehož hladina je rovněž zvýšena ve 100 % případů akutní pankreatitidy, u akutních bolestí břicha je zvýšena jen v 10 %. V běžné klinické praxi se používá kritéria pětinásobného zvýšení celkové amylázy, které je diagnostickým indikátorem akutní pankreatitidy. Zvýšená sérová hladina je samozřejmě prokazatelná u akutních i chronických onemocnění ledvin, u střevních zánětů ve 30 % případů akutní apendicitidy. Zvýšení hladiny  $\alpha$ -amylázy v moči u akutní pankreatitidy přetrvává déle a nastupuje později než zvýšení hladiny v séru. **Slinný typ  $\alpha$ -amylázy** (*S-amyláza*) je zvýšen u onemocnění slinných žláz, u některých plicních chorob, u řady maligních tumorů, ovariálních cysty, mimoděložního těhotenství. Normální hodnoty poměru clearance amylázy a kreatininu jsou mezi 2–4 %, při pankreatidě stoupá index na 10 %. Zvýšený index clearance amylázy/kreatininu byl prokázán např. u diabetické ketoacidózy, popáleninách, myelomu a u ledvinných poruch. Snížení indexu clearance je diagnosticky významné pro makroamylázémii.



Markery akutní pankreatitidy

Existují i specifické metody pro stanovení slinné  $\alpha$ -amylázy, např. ELISA s monoklonální protilátkou.

## Průkaz makroamylázového komplexu v séru

Makroamyláza a je příčinou 8–12 % případů hyperamylazémie (zvýšené hodnoty celkové sérové hladiny  $\alpha$ -amylázy). Příčinou je makrokomplex enzymu s vysokomolekulárními proteiny séra, především s imunoglobuliny IgA a IgG. Obdobný makrokomplex tvoří i další enzymy a to např. pankreatická lipáza. Makroformu  $\alpha$ -amylázy lze stanovit gelovou filtrací, elektroforeticky, precipitací s PEG nebo ELISA technikou. Kvantitativní stanovení poměru makroformy enzymu je nejpřesnější s použitím gelové chromatografie na Sephadexu® G-100. Separace probíhá v chlazeném boxu při 10 °C na koloně 9 × 150 mm při průtoku 3 ml/hod 5 hodin. Aktivita  $\alpha$ -amylázy je v jednotlivých frakcích stanovena enzymaticky standardním postupem s pNP blokováným maltoheptaosidem a výsledkem je poměr obou forem enzymu.

Důležitým aspektem pro průkaz makroamylázového komplexu je nestabilita komplexu s imunoglobuliny. Při zmrazení a rozmrazení séra dochází k disociaci komplexů, makroamylázu je proto nutné prokazovat v čerstvě odebraném vzorku séra.

**Referenční hodnoty:** Makroforma enzymu není za fyziologických podmínek přítomna. Výsledek testu je udáván v procentuálním poměru makroformy amylázy vypočtené z aktivit jednotlivých frakcí. Pozitivní výsledek, průkaz komplexu, je tedy hodnota > 0.

## Stanovení pankreatické amylázy ve stolici

Stanovení pankreatické amylázy ve stolici<sup>[17] [18] [19] [20]</sup> je relativně málo používaný test, který je rovněž imunochemickým průkazem s protilátkou k lidské pankreatické amyláze – novinka, která se objevila v roce 2000. Normální hodnoty jsou nad 360  $\mu\text{g/g}$  stolice, kalibrační standardy jsou v rozmezí 0–12 000  $\mu\text{g/g}$ . Test je založen na **ILMA** (ImmunoLuminoMetric Assay) principu s luminiscenčním měřením markerem je akridinium ester. Původní práce o stanovení pankreatické amylázy ve stolici popisují především detekci izoenzymů a korelaci s dalšími pankreatickými enzymy ve stolici u nemocných s pankreatickou insuficiencí.

## Odkazy

### Zdroj

- se svolením autora převzato z KOCNA, Petr. *GastroLab : MiniEncyklopedie laboratorních metod v gastroenterologii* [online]. ©2002. Poslední revize 2011-01-08, [cit. 2011-03-04]. <<http://www1.fl1.cuni.cz/~kocna/glab/glency1.htm>>.

### Reference

1. CARROLL, Jennifer K, Brian HERRICK a Teresa GIPSON. Acute Pancreatitis: Diagnosis, Prognosis, and Treatment. *American Family Physician* [online]. 2007, vol. 75, no. 10, s. 1513-1520, dostupné také z <<https://www.aafp.org/afp/2007/0515/p1513.pdf>>. ISSN 0002-838X.
2. KOCNA, Petr a Tomáš ZIMA. Hyperamylazémie, laboratorní a klinické aspekty. *Časopis lékařů českých* [online]. 2006, vol. 145, s. 449-452, dostupné také z <<https://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych-clanek?id=3093>>. ISSN 1803-6597.
3. QUARINO, L, Q DANG a J HARTMANN. An ELISA method for the identification of salivary amylase. *Journal of forensic sciences*. 2005, vol. 50, no. 4, s. 873-876, ISSN 0022-1198.
4. SMITH, Ross C, James SOUTHWELL-KEELY a Douglas CHESHER. Should serum pancreatic lipase replace serum amylase as a biomarker of acute pancreatitis?. *ANZ journal of surgery* [online]. 2005, vol. 75, no. 6, s. 399-404, dostupné také z <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1445-2197.2005.03391.x?cookieSet=1>>. ISSN 1445-1433.
5. PANTEGHINI, Mauro, Ferruccio CERIOTTI a Franca PAGANI, et al. Recommendations for the routine use of pancreatic amylase measurement instead of total amylase for the diagnosis and monitoring of pancreatic pathology. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. 2002, vol. 40, no. 2, s. 97-100, dostupné také z <<https://www.degruyter.com/doi/abs/10.1515/CCLM.2002.017>>. ISSN 1434-6621.
6. TREACY, John, Anthony WILLIAMS a Renz BAIS, et al. Evaluation of amylase and lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *ANZ Journal of Surgery* [online]. 2001, vol. 71, no. 10, s. 577-82, dostupné také z <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1445-2197.2001.02220.x?cookieSet=1>>. ISSN 1445-1433.
7. PEZZILLI, R, G TALAMINIL a L GULLO. Behaviour of serum pancreatic enzymes in chronic pancreatitis. *Digestive and Liver Disease*. 2000, vol. 32, no. 3, s. 233-237, ISSN 1590-8658.
8. KEIM, V, N TEICH a F FIEDLER, et al. A comparison of lipase and amylase in the diagnosis of acute pancreatitis in patients with abdominal pain. *Pancreas*. 1998, vol. 16, no. 1, s. 45-49, ISSN 0885-3177.
9. CHASE, CW, DE BARKER a WL RUSSELL. Serum amylase and lipase in the evaluation of acute abdominal pain. *The American surgeon*. 1996, vol. 62, no. 12, s. 1028-1033, ISSN 0003-1348.
10. MALFERTHEINER, P a J ENRIQUE DOMÍNGUEZ-MUÑOZ. Clinical and laboratory diagnosis of acute pancreatitis. *Annali italiani di chirurgia*. 1995, vol. 66, no. 2, s. 165-170, ISSN 0003-469X.
11. RACEK, Jaroslav, et al. *Klinická biochemie*. 2. vydání. Praha : Galén, 2006. 329 s. s. 87. ISBN 80-7262-324-9.
12. BERMEJO, JF, J CARBONE a JJ RODRIGUEZ, et al. Macroamylasaemia, IgA hypergammaglobulinaemia and autoimmunity in a patient with Down syndrome and coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2003, vol. 38, no. 4, s. 445-447, ISSN 0036-5521.
13. LAWSON, GJ. Prevalence of macroamylasaemia using polyethylene glycol precipitation as a screening method. *Annals of clinical biochemistry*. 2001, vol. 38(Pt 1), s. 37-45, ISSN 0004-5632.
14. VENTRUCCI, M, A CIPOLLA a M MIDDONNO, et al. Macroamylase detection in serum using selective

- precipitation: a rapid and reliable assay. *Italian journal of gastroenterology and hepatology*. 1999, vol. 31, no. 9, s. 846-849, ISSN 1125-8055.
15. CUTOLO, M, A SULLI a A BARONE, et al. Macroamylasemia: a possible cause of unexplained hyperamylasemia in rheumatoid arthritis. *British journal of rheumatology*. 1995, vol. 34, no. 3, s. 290-292, ISSN 0263-7103.
  16. HORTIN, GL, AL SUMMERFIELD a TR WILHITE, et al. Detection of autoantibodies to amylase by ELISA: comparison of detection of macroamylase and free autoantibody. *Clinical chemistry* [online]. 1994, vol. 40, no. 12, s. 2254-2259, dostupné také z <<http://clinchem.aaccjnls.org/content/clinchem/40/12/2254.full.pdf>>. ISSN 0009-9147.
  17. MORIYOSHI, Yuriko, Tadashi TAKEUCHI a Keiko SHIRATORI. Fecal isoamylase activity in patients with pancreatic diseases. *Pancreas*. 1991, vol. 6, no. 1, s. 70-76, ISSN 0885-3177.
  18. GROMASHEVSKAIA, LL, GF STREMETSKII a TV BOGATYR'. Opređenje izofermentov amilazy v kale. *Laboratornoe delo*. 1981, roč. 1981, no. 10, s. 609-612, ISSN 0023-6748.
  19. MÜLLER, G. Fakale Enzymdiagnostik. *Deutsche Zeitschrift für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten*. 1979, vol. 39, no. 6, s. 257-265, ISSN 0012-1053.
  20. HINTNER, I, G MÜLLER a A THEUNE. Bestimmungen von Isoenzymen der alkalischen Phosphatase und alpha-Amylase im Stuhl. *Zeitschrift für die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete*. 1977, roč. 15, vol. 32, no. 12, s. 292-295, ISSN 0044-2542.

