

**V ostatnom období sa dopopredia dostávajú rôzne formy porúch trávenia a vstrebávania, ktoré sa odborne združujú pod názov malabsorpčný syndróm (MAS). Naše oddelenie reflektuje na túto skutočnosť zriadením nového úseku enzýmovej histochemie.**

**Ponúka možnosť priamej diagnostiky porúch aktivity duodenálnych enzýmov ako súčasť endoskopického vyšetrenia realizovaných v gastroenterologických ambulanciách.**

**Vyšetrenia budú realizované na oddelení bioptickej a cytologickej diagnostiky Nemocnica Ilava, n.o. v spolupráci s externou zvozovou službou SYNLAB Slovakia.**

## **Histochemický dôkaz enzýmovej aktivity duodenálnej sliznice :**

### **I. Disacharidázy**

Disacharidázy tenkého čreva štiepia disacharidy prichádzajúce z naštiepených polysacharidov z potravy. V mikrovilóznej zóne enterocytov vykazujú za normálnych okolností pozitívnu reakciu, avšak selektívne deficity disacharidáz, najčastejšie laktázy, sa prejavia v znížení až negativite tejto reakcie.

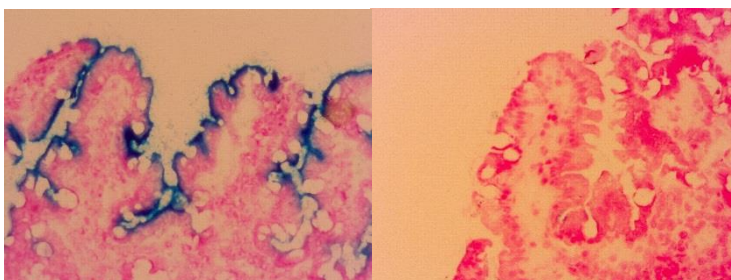
Pri chorobách s dediferenciáciou enterocytov, ako je celiakálna sprue (CS, gluténová enteropatia), dochádza k nerovnomernej redukcii všetkých zložiek mikrovilóznej zóny, teda i disacharidáz, takže tu nachádzame často poly-disacharidový deficit. Stupeň deficitov jednotlivých disacharidáz odzrkadľuje i dĺžku neliečeného prebiehajúceho ochorenia. Treba podotknúť, že pri dodržiavaní diétného režimu u celiatikov sú slizničné zmeny a zmeny aktivity disacharidáz reverzibilné.

**Priama diagnostika disacharidáz** v mikrovilóznom leme enterocytov duodéna. Stanovované

enzýmy:

- Laktáza
- Trehaláza
- Sacharáza
- Maltáza

**Indikácie vyšetrení: malabsorpčný syndróm (MAS), príslušné enzým-enteropatie.**



*Mikrofotografie Laktázy: normálny nález, úplná absencia laktázovej aktivity*

## Histochemický dôkaz enzýmovej aktivity duodenálnej sliznice :

### II. Diaminooxidáza (DAO aktivita)

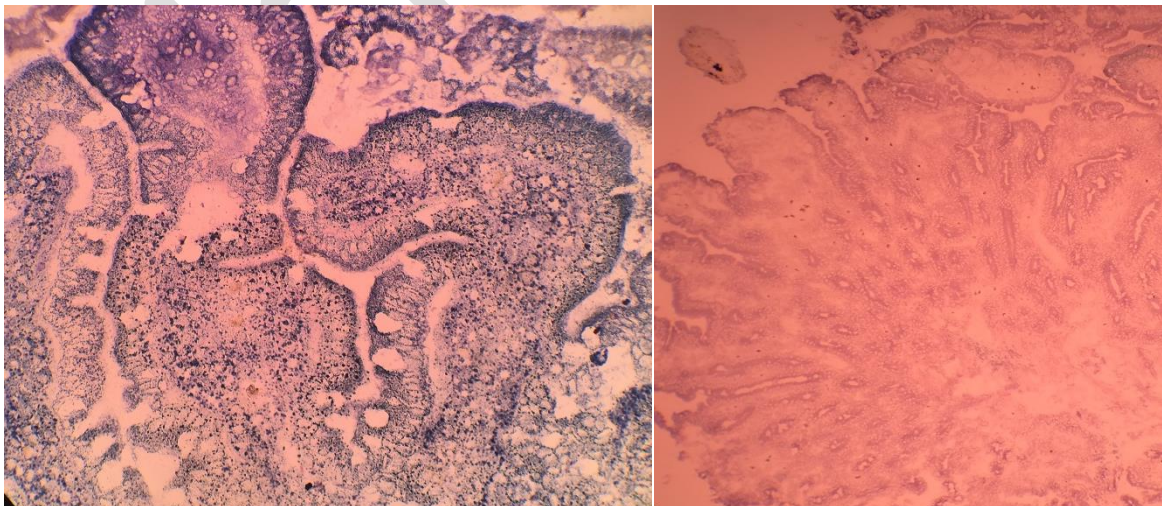
Biochemické vyšetrenie DAO zo séra informuje o celkovej funkčnej aktivite, avšak neodráža reálny intestinálny enzymatický status. **Sérová hodnota je znížená iba u polovice pacientov s HIT a zároveň znížená u 17% zdravej populácie! (Maintz et al., 2011.)**

**Histamínová intolerancia (HIT)** – nesúlad medzi množstvom exogénne prijatého histamínu a jeho degradáciou enzýmom DAO

**Diaminooxidáza (DAO)** spolu s enzýmom N-metyl transferázou (HNMT – má iba minoritnú funkciu v enterocytoch) sa spolupodieľajú na degradácii exogénne prijatého histamínu.

**Priama diagnostika aktivity DAO** v enterocytoch kde sa tvorí a následne po príjme exogénneho histamínu sa vytvorený enzým formou degranulácie dostáva do lamina propria. Tam štípe exogénne prijatý histamín a mení na imidazol a aldehyd. Jeho najväčšia expresia sa dokázala v stene tenkého čreva a colon ascendens. Tvorí primárnu bariéru pre intestinálnu resorpciu exogénne prijatého histamínu. Aktivitu DAO **nie je možné** dokázať imunohistochemicky.

**Indikácie vyšetrení:** podozrenie na HIT, kontrola dodržiavania eliminačnej diéty, prípadne kontrolné vyšetrenie aktivity DAO po ataku exogénne prijatým histamínom.



Mikrofotografie DAO : normálny nález, stav histamínovej intolerancie

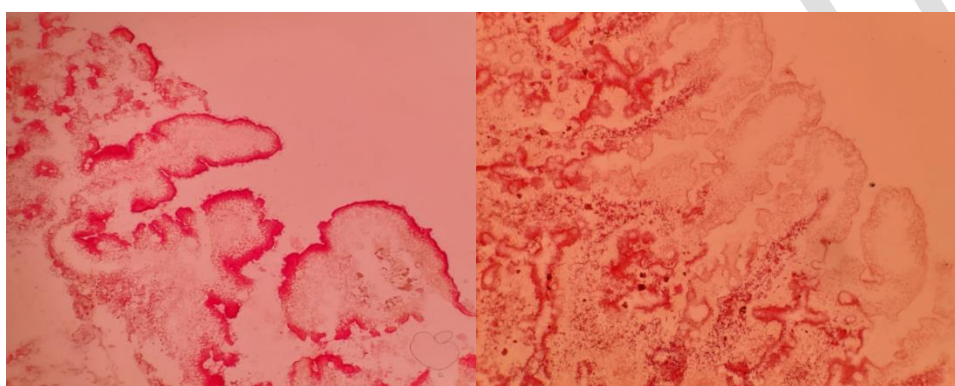
## Histochemický dôkaz enzýmovej aktivity duodenálnej sliznice :

### III. Dipeptidyl(amino)peptidáza IV (DPP IV, DAP)

Enzým zo skupiny peptidáz ktorého úlohou je štiepiť bielkoviny na jednotlivé aminokyseliny vstrebávajúce sa do krvi. V mikrovilóznej zóne enterocytov vykazujú za normálnych okolností pozitívnu reakciu.

**Priama diagnostika dipeptidázy** v mikrovilóznom leme enterocytov duodéna. Stanovovaný enzým dipeptidyl (amino)peptidáza IV

**Indikácie vyšetrení: malabsorpčný syndróm (MAS), príslušné enzým-enteropátie.**



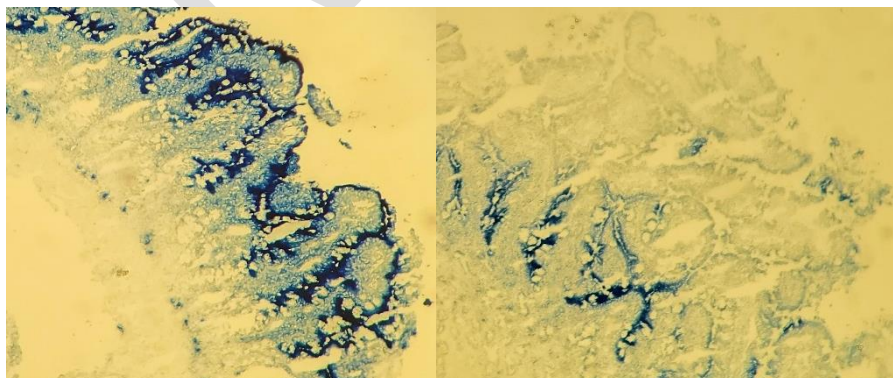
*Mikrofotografie  
DPP IV : normálny  
nález, parciálny  
deficit v oblasti  
apexov klkov*

### IV. Alkalická fosfatáza (ALP)

Enzým nachádzajúci sa takmer vo všetkých tkanivách ľudského organizmu s vysokým obsahom v kostiach, pečeni, placentе, obličkách a v čreve. V histochemickom dôkaze aktivity ALP v duodenálnej sliznici sa zameriavame na pokles aktivity, ktorá priamoúmerne klesá s maturáciou črevného epitelu.

**Priama diagnostika alkalickej fosfatázy** v mikrovilóznom leme enterocytov duodéna.

**Indikácie vyšetrení: malabsorpčný syndróm (MAS), stupeň maturácie enterocytov** korešponduje s funkčnosťou ich mikrovilóznej zóny



*Mikrofotografie ALP:  
normálny nález,  
parciálny deficit  
v oblasti apexov klkov*

PhDr. BETÁKOVÁ Zuzana  
Úsek enzýmovej histochemie  
Odd. bioptickej a cydologickej diagnostiky  
NsP ILAVA, n.o.

## **Odporučený odber biologického materiálu na histochemické vyšetrenie enzýmov**

Optimálne sú dva odbery bioptických vzoriek obligatórne z duodéna: 1x z oblasti bulbu a 1x z distálnej časti duodéna. Dôvodom je pomerne častý jav nesplývavého postihnutia sliznice tenkého čreva pri MAS a týmto spôsobom odberu získame komplexnejší a reálnejší pohľad na funkčné postihnutie tráviaceho traktu.

**Odber 2 vzoriek duodéna (1x bulbus, 1x duodenum)** v ktorých hodnotíme status enzýmovej aktivity enterocytov duodéna. **Možnosť ordinácie z ponuky nasledovných enzýmov:**

- Laktáza
- Trehaláza
- Sacharáza
- Maltáza
- Diaminooxidáza (DAO)
- Dipeptidyl(amino)peptidáza IV
- Alkalická fosfatáza

### **Pokyny pre uchovávanie a transport materiálu na histochemické vyšetrenie enzýmov – **CAVE!****

1. Pre transport natívnych vzoriek tenkého čreva, v ktorých stanovujeme aktivitu enzýmov používame Skúmavku Eppendorf plnenú petroléterom.
2. **Skúmavka Eppendorf** je dodávaná odberovým pracoviskám.
3. **Skúmavku s petroléterom je potrebné uchovávať v mrazničke**, min. deň pred plánovaným odberom. Optimálne je uchovávanie skúmaviek naplnených petroléterom po celý čas v mrazničke, predídete sa tým vyprchaniu transportného média, ktorý i napriek teplote  $-18^{\circ}\text{C}$  zostáva stále v tekutom stave.
4. Pred vložením vzoriek do skúmavky je potrebné skúmavku riadne označiť - meno a priezvisko pacienta, dátum narodenia.
5. **Ihneď po vložení vzoriek do skúmavky je potrebné ju zatvoriť a až do príchodu vodiča vložiť skúmavku s materiálom opäť do mrazničky.** Zamedzením kolísania teploty transportného média dosiahneme minimálnu inaktiváciu aktivity enzýmov, a tým predídeme nesprávnym /nekorektným výsledkom.

#### **Transport:**

Materiál musí byť v čo najkratšom čase, maximálne však na 2. deň transportovaný do laboratória, kde sa ihneď spracúva. **Nedodržanie uvedených podmienok býva najčastejšou príčinou problémov predanalytickej fázy.**

Doporučeným spôsobom kontaktu je telefonát, prípadne SMS na tel. číslo 0910/979 761, najneskôr 2. deň príde pre materiál vodič, ktorý realizuje zvoz vzoriek pre laboratória Nemocnice Ilava, n.o,

Tešíme sa na spoluprácu!

Odd. biptickej a cytologickej diagnostiky  
PhDr. Betáková Zuzana