

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MARIJA JERAJ

DIPLOMSKA NALOGA

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI
ŠTUDIJSKI PROGRAM LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MARIJA JERAJ

**DOLOČANJE AKTIVNOSTI AMILAZE IN LIPAZE PRI BOLNIKI
Z AKUTNIM IN KRONIČNIM PANKREATITISOM**

**DETERMINING THE ACTIVITY OF AMYLASE AND LIPASE IN
PATIENTS WITH ACUTE AND CHRONIC PANCREATITIS**

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI
ŠTUDIJSKI PROGRAM LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2014

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za Farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem. Meritve aktivnosti amilaze in lipaze ter dihalnega testa so opravili na Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani.

Zahvala

Najprej bi se rada zahvalila mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biokem., da se je odzval moji prošnji in mi tako omogočil pisanje diplomske naloge pod njegovim mentorstvom in hvala, za vso pomoč pri izdelavi naloge in čas, ki mi ga je posvetil. Prav tako bi se zahvalila vsem v laboratoriju za aplikativno biokemijo v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani, za njihovo prijaznost in strokovno pomoč pri izvajanju eksperimentalnega dela.

Hvala tudi prof. dr. Albinu Kristlu in asist. dr. Roku Frlanu za pregled moje diplomske naloge.

Posebna zahvala pa gre tudi moji družini, še posebej mami in očetu, ki sta mi omogočila študij in mi stala ob strani skozi celotno obdobje študija. Hvala tudi mojemu partnerju in hčerki, ki sta vse težko naredila lažje.

Hvala vsem!

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Ljubljana, september 2014

Marija Jeraj

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Albin Kristl

Član diplomske komisije: asist. dr. Rok Frlan

KAZALO

KAZALO	I
ABSTRACT	IV
POVZETEK	VI
SEZNAM OKRAJŠAV	VIII
1 UVOD	1
1.1 BOLEZNI TREBUŠNE SLINAVKE.....	1
1.1.1 ANATOMIJA IN FIZIOLOGIJA TREBUŠNE SLINAVKE (PANKREASA).....	1
1.1.2 AKUTNI PANKREATITIS.....	2
1.1.2.1 Patogeneza.....	3
1.1.2.2 Klinična slika.....	4
1.1.2.3 Diagnostika.....	4
1.1.3 KRONIČNI PANKREATITIS.....	7
1.1.3.1 Etiologija in patogeneza.....	8
1.1.3.2 Klinična slika.....	8
1.1.3.3 Diagnostika.....	9
1.2 LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA PANKREATIČNIH ENCIMOV (AMILAZE IN LIPAZE) TER DIHALNI TESTI.....	11
1.2.1 ALFA-AMILAZA (α -AMILAZA).....	11
1.2.1.1 Diagnostični pomen α -amilaze in njenih izoencimov.....	12
1.2.2 METODE ZA DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI ALFA-AMILAZE V SERUMU IN URINU.....	13
1.2.3 LIPAZA.....	13
1.2.3.1 Diagnostični pomen pankratične lipaze.....	14
1.2.4 METODE ZA DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI LIPAZE V SERUMU.....	14
1.2.5 DIHALNI TESTI.....	15
2 NAMEN DELA	16
3 MATERIALI IN METODE	17
3.1 SPLOŠNA OPOZORILA.....	17
3.2 PREISKOVANCI.....	17
3.3 REFERENČNE VREDNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE (26, 27).....	17
3.4 VZORCI, PRIMERNI ZA ANALIZO (26, 27).....	18
3.5 METODE.....	19
3.5.1 DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI α -AMILAZE V SERUMU.....	19
3.5.1.1 Reagenti, kalibratorji, kontrole (26).....	19
3.5.1.2 Aparature in pribor.....	19
3.5.1.3 Kalibracija.....	20
3.5.1.4 Opis metode (14, 26, 28, 30).....	20
3.5.2 DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI LIPAZE V SERUMU.....	21
3.5.2.1 Reagenti, kalibratorji, kontrole (27).....	21
3.5.2.2 Aparature in pribor.....	22
3.5.2.3 Kalibracija.....	22

3.5.2.4	Opis metode (27, 29, 30).....	22
3.5.3	FOTOMETRIJA.....	24
3.5.4	DIHALNI TEST.....	24
3.5.5	OBDELAVA PODATKOV.....	27
4	REZULTATI.....	28
4.1	MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI KONTROLNI SKUPINI.....	28
4.1.1	STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI KONTROLNI SKUPINI.....	29
4.1.1.1	Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini normalna.....	30
4.1.1.2	Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini.....	30
4.1.1.3	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini.....	31
4.1.1.4	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini.....	32
4.2	MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI OBEH SKUPINAH PACIENTOV (PACIENTI Z AKUTNIM IN KRONIČNIM PANKREATITISOM).....	33
4.2.1	STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI OBEH SKUPINAH PACIENTOV.....	34
4.2.1.1	Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov normalna.....	35
4.2.1.2	Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov.....	35
4.2.1.3	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov.....	36
4.2.1.4	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov.....	37
4.3	MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI BOLNIKIHZ AKUTNIM PANKREATITISOM.....	37
4.3.1	STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI AP.....	39
4.3.1.1	Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP normalna.....	39
4.3.1.2	Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP.....	40
4.3.1.3	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri AP.....	40
4.3.1.4	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri AP.....	41
4.4	MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI BOLNIKIHZ KRONIČNIM PANKREATITISOM.....	42
4.4.1	STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI KP.....	43
4.4.1.1	Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP normalna.....	43

4.4.1.2	Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP	44
4.4.1.3	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri KP	44
4.4.1.4	Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri KP	45
4.5	IZRAČUN KLINIČNE OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE.....	45
4.5.1	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE PRI BOLNIKIHZ AP IN PRI KONTROLNI SKUPINI.....	46
4.5.2	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI LIPAZE PRI BOLNIKIHZ AP IN PRI KONTROLNI SKUPINI.....	47
4.5.3	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE PRI BOLNIKIHS KP IN PRI KONTROLNI SKUPINI.....	48
4.5.4	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI LIPAZE PRI BOLNIKIHS KP IN PRI KONTROLNI SKUPINI.....	49
4.6	RAZPRAVA	50
4.6.1	MERJENJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNI TEST PRI KONTROLNI SKUPINI.....	50
4.6.2	MERJENJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNI TEST PRI OBEH SKUPINAH PACIENTOV	51
4.6.3	MERJENJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNI TEST PRI PACIENTIHZ AP IN KP.....	52
4.6.4	IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI.....	53
5	SKLEP	55
6	LITERATURA	56

ABSTRACT

Pancreatitis is an inflammation of the pancreas. It usually occurs due to the activation of the pancreatic enzymes inside the organ, instead of their later activation in the small intestine. These enzymes, amongst other things, also break down proteins and fats and therefore damage the pancreas. The consequence of this is an inflammatory reaction. In the worse cases, bleeding, tissue necrosis, infection or cyst formation may occur. The enzymes may pass over to the blood stream due to the infection and damage the lungs, heart and kidneys. Nowadays we distinguish two forms of pancreatitis, acute and chronic. The acute is reversible and the chronic is progressive.

The acute pancreatitis (AP) is an acute inflammation of the pancreas, where the activation of the pancreatic enzymes occurs in the gland itself which leads to the destruction of the exocrine and endocrine function of the pancreas and damage to the distant organs. The clinical symptoms are abdominal pain and elevated pancreatic enzymes (amylases, lipases ...). AP can be caused by numerous factors, most common being gallstones and alcohol, others are rare.

Chronic pancreatitis (CP) is a chronic inflammation of the pancreas, indicated by progressive and incorrigible destruction of the pancreatic parenchyma and fibrosis with the loss of the exocrine and endocrine function of the gland. CP is characterized by chronic pain which results in neuropathic pain. Most common cause of CP in adults is alcohol. In children and young people, the most common cause of CP is cystic fibrosis. The characteristic of CP is a transition of symptoms from pain to steatorrhea (secretion of more than 7g of fat per day in feces) and lastly to diabetes. The concentration of pancreatic enzymes can be normal or slightly elevated in CP.

Our research included 25 healthy subjects as control, 17 patients with diagnosed acute pancreatitis and 18 patients with diagnosed chronic pancreatitis. We measured the activity of amylase and lipase in the serum with the method of photometry in all patients. In this manner we ascertained the level of the deviation of the measured values from the given referential values. We also calculated whether the results of the amylase and lipase activity are in accordance with each other. In addition, we calculated the sensitivity and specificity

of the method of determining the amylase and lipase activity with both groups of patients and with the control group and assessed the results on the basis of other studies. In the end, we performed a correlation with a breath test.

On the basis of the performed studies we established that the results of the lipase activity deviates in the entire group of patients, that the results of amylase and lipase activity match and that the results of amylase and lipase activity of the control group are reliable because they are within the limits of the referential values. From the calculations of sensitivity, we determined that the method for measuring amylase activity has lower sensitivity than the method for measuring lipase activity. In the end, we were able to conclude from all the calculations that lipase activity is a better indicator of the acute and chronic pancreatitis than amylase activity.

The results of the correlation between the activity of both enzymes and the breath test showed that there is no statistically significant correlation between them.

Key words: acute pancreatitis, chronic pancreatitis, amylase activity, lipase activity.

POVZETEK

Pankreatitis je vnetje trebušne slinavke (pankreas). Po navadi se pojavi zaradi aktivacije encimov trebušne slinavke (TS) znotraj organa, namesto šele kasneje v prebavni cevi. Ti encimi med drugim razkrajajo tudi beljakovine in maščobe in zato poškodujejo TS.

Posledica je vnetna reakcija. V hujših primerih pride do krvavitev, nekroze tkiva, okužb in nastanka cist. Encimi lahko zaradi vnetja prehajajo v krvni obtok in poškodujejo pljuča, srce in ledvice. Danes razlikujemo dve obliki pankreatitisa, in sicer akutno in kronično. Akutna je reverzibilna, kronična pa progresivna.

Akutni pankreatitis (AP) je akutno vnetje trebušne slinavke, pri katerem pride do aktivacije pankreatičnih encimov v sami žlezi in tako do posledične razrušitve eksokrine in endokrine funkcije pankreasa ter prizadetosti oddaljenih organov. Klinično ga označujeta bolečina v trebuhu in dvig pankreatičnih encimov (amilaze, lipaze ...). AP lahko povzročijo številni dejavniki, najpogostejša sta žolčni kamni in alkohol, drugi pa so redki.

Kronični pankreatitis (KP) je kronično vnetje trebušne slinavke, ki ga označujeta napredujoči in nepopravljivi propad žleznega parenhima in fibroza z izgubo eksokrine in endokrine funkcije žleze. Za KP je značilna kronična bolečina, ki prehaja v nevropatsko (bolečina, ki je posledica okvare živčevja). Najpogostejši vzrok KP pri odraslih je alkohol. Pri otrocih in mladih pa je najpogostejši vzrok cistična fibroza. Za KP je značilen prehod simptomov od bolečine do steatoreje (izločanje več kot 7 g maščobe/dan v blatu) in na koncu sladkorne bolezni. Koncentracija pankreatičnih encimov je pri KP lahko normalna ali rahlo povišana.

V to raziskavo je bilo vključenih 25 zdravih subjektov kot kontrola in 17 pacientov z diagnozo AP in 18 pacientov z diagnozo KP. Vsem preiskovancem smo z metodo fotometrije izmerili aktivnost amilaze in lipaze v serumu in tako ugotovili, kolikšno je bilo odstopanje izmerjenih vrednosti od podanih referenčnih vrednosti. Izračunali smo tudi, ali se rezultati aktivnosti amilaze in lipaze ujemajo med seboj. Prav tako smo računali občutljivost in specifičnost metode za določanje aktivnosti amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov in pri kontrolni skupini, končne rezultate pa smo ovrednotili na podlagi drugih študij. Na koncu smo izvedli še korelacijo z dihalnim testom.

Na podlagi opravljene študije smo ugotovili, da pri celotni skupini pacientov rezultati aktivnosti lipaze odstopajo, da se rezultati aktivnosti amilaze in lipaze ujemajo med seboj in da so rezultati aktivnosti amilaze in lipaze pri kontrolni skupini zanesljivi, ker so v mejah referenčnih vrednosti. Iz izračunov občutljivosti smo ugotovili, da ima metoda za določanje aktivnosti amilaze slabšo občutljivost kot metoda za določanje aktivnosti lipaze. Na koncu smo iz vseh izračunov lahko sklepali, da je aktivnost lipaze boljši pokazatelj akutnega in kroničnega pankreatitisa kot aktivnost amilaze. Rezultati korelacije med aktivnostjo obeh encimov in dihalnim testom so pokazali, da med njimi ni statistično pomembne korelacije.

Ključne besede: akutni pankreatitis, kronični pankreatitis, aktivnost amilaze, aktivnost lipaze.

SEZNAM OKRAJŠAV

AF – Alkalna fosfataza

ALT – Alanin aminotransferaza

AP – Akutni pankreatitis

APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) – Točkovna lestvica vrednotenja akutnega in kroničnega zdravstvenega stanja

AST – Aspartat aminotransferaza

CRP – C reaktivni protein

ERCP – Endoskopska retrogradna holangio-pankreatografija

GGTP – Gamaglutamilna transpeptidaza

IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) – Mednarodno združenje za klinično kemijo

IgG4 – Imunoglobulini G4

KP – Kronični pankreatitis

LDH – Laktat dehidrogenaza

LN – Lažno negativni

LP – Lažno pozitivni

MRCP – Magnetnoresonančna holangio-pankreatografija

RN – Resnično negativni

RP – Resnično pozitivni

SPINK1 (Serine protease inhibitor Kazal-type 1) – Tripsinski inhibitor

TS – Trebušna slinavka

1 UVOD

1.1 BOLEZNI TREBUŠNE SLINAVKE

1.1.1 ANATOMIJA IN FIZIOLOGIJA TREBUŠNE SLINAVKE (PANKREASA)

Trebušna slinavka (TS) je lobularna prebavna žleza, ki leži v retroperitonealnem prostoru v višini 1. in 2. ledvenega vretenca, za želodcem in ob velikih žilah. Dolga je od 12 do 15 cm, tehta pa od 50 do 120 g. Sestavljajo jo glava s procesusom uncinatusom, vrat, telo in rep. Glavo obdaja dvanajstnikova medialna stena, rep se končuje pri vranici. Trebušno slinavko ovija tanka vezivna ovojnica, površina je vozličasta (1, 2, 3).

Žlezo sestavljata eksokrini in endokrini del. Eksokrini del je iz žleznihih celic, urejenih v acinuse. Acinus pa sestavljata dva funkcionalna tipa celic – acinarne in duktularne celice. Med acinusi se nahajajo Langerhansovi otočki, ki predstavljajo endokrini del TS. Vsak Langerhansov otoček vsebuje številne različne nevroendokrine celice. Danes poznamo 4 glavne tipe celic, in sicer:

- celice B ali beta predstavljajo 70 % celic, izločajo inzulin in zasedajo predvsem osrednje dele otočkov;
- celic A ali alfa je 20 % in izločajo glukagon, razporejene pa so bolj po obrobju otočkov;
- celic D je 5–10 %, izločajo somatostatin in gastrin, razporejene pa so naključno po pankreatičnih otočkih;
- celic PP ali F je 1–2 %, izločajo pankreatični polipeptid (PP), posamezne pa najdemo tudi v eksokrini komponenti žleze (v žleznihih izvodilih); poznamo pa še celice, ki izločajo vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP) (1, 3).

Acinarne celice so sestavljene iz številnih zimogenih zrn, v katerih so uskladiščeni neaktivni proencimi (predstopnje različnih encimov). Na bazalni membrani so receptorji za parakrine, endokrine in živčne prenašalce. Acinarne celice izločajo prebavne encime (alfa amilazo, lipazo, peptidazo, tripsin, elastazo, fosfolipazo ...) v raztopini, ki je podobna plazmi (1, 2, 3, 5). Duktularne celice izločajo velike količine tekočine z visoko koncentracijo natrijevega bikarbonata. Ko se obe tekočini pomešata, nastane z encimi

bogat alkalen sok, ki preko sistema izvodil vstopa v dvanajstnik in deluje na himus (1, 2, 3).

Eksokrina sekrecija TS ima dve poglavitni nalogi:

- prebavo hrane v dvanajstniku in
- nevtralizacijo kislega himusa, ki prihaja iz želodca (1).

Kemično prebavo hrane opravijo hidrolitični encimi acinarnih celic, ki cepijo maščobe, ogljikove hidrate, nukleinske kisline, beljakovine in druge sestavine hrane. Nevtralizacijo želodčne kisline opravi z bikarbonatom bogat pankreatični sok. Izločanje pankreatičnega soka spodbujajo hrana, nevralski in humoralni dejavniki. Sekretin spodbuja sekrecijo bikarbonata, holecistokinina pa encimov (1).

Dnevno izloči pankreas v dvanajstnik od 1,5 do 3 litre soka, v katerem je 22 različnih encimov – 15 proteaz, 3 do 6 amilaz, lipaza in fosfolipaza. Pankreatični sok vsebuje aktivirano lipazo in amilazo, drugi encimi pa so uskladiščeni v acinarnih celicah v obliki neaktivnih proencimov in se aktivirajo šele v dvanajstniku. V dvanajstniku aktivira enterokinaza tripsinogen v aktivni tripsin, ki sproži verižno aktivacijo vseh drugih pankreatičnih encimov (1).

1.1.2 AKUTNI PANKREATITIS

Akutni pankreatitis (AP) je akutno vnetje pankreasa, ki ga klinično označuje bolečina v trebuhu, ki jo spremljajo povečane koncentracije encimov trebušne slinavke. Pri AP obstaja stopnjevanje obsežnosti okvare (blaga in huda oblika). Pri blagi obliki je razpoznavna nekroza peripankreatičnega maščevja in intersticijski edem žleze, nekroze parenhima pa praviloma ni. Blaga oblika se lahko razvije v hudo obliko z obširno nekrozo maščevja v trebušni slinavki in okrog nje, nekrozo parenhima in krvavitev. Povzroči tudi sistemsko prizadetost in multiorgansko odpoved. V teh primerih je bolezen lahko tudi smrtna (1, 4).

Razdelitev akutnega pankreatitisa

Za opredelitev jakosti AP uporabljamo klasifikacijo iz Mednarodne konference o pankreatitisu (Atlanta). AP je razvrščen v dve obliki:

- blagi AP (serozni in intersticijski) z minimalnimi spremembami v delovanju TS,
- težje potekajoči AP (nekrozantni) z lokalnimi zapleti in/ali odpovedjo organov (1).

AP lahko povzročijo številni dejavniki. Najpogostejši so žolčni kamni (35–40 %) in alkohol (30 %). Manj pogosto (10 %) so vzrok drugi etiološki faktorji (hiperlipemija, hiperkalcemija, poškodbe, po ERCP, karcinom pankreasa, bakterije, cistična fibroza ...). Pri do 10 % bolnikov z AP pa vzroka za nastanek ne najdemo in govorimo o idiopatskem pankreatitisu (1, 6).

1.1.2.1 Patogeneza

Patofiziološki mehanizem razvoja AP je deloma pojasnjen, v veliki meri pa so razlage hipotetične (4). Pri nastanku AP sodelujejo mehanski dejavniki (zapora žolčnega in/ali pankreatičnega voda), toksični dejavniki (proste maščobne kisline, strupi) in biokemični dogodki pri prezgodnji aktivaciji tripsinogena v acinarnih celicah (1, 6).

Osnovni patogenetični mehanizem, ki je skupen vsem pankreatitisom, je neprimerna aktivacija tripsina, ki sproži kaskadno aktivacijo drugih encimov in avtodigestijo žleze.

Aktivacija malih količin tripsina v acinarnih celicah je fiziološki dogodek, zato imajo te celice obrambni mehanizem oz. imajo dobro zavarovane neaktivne proteolitične encime (funkcijske beljakovine). V neaktivni obliki jih vzdržujejo pridružene peptidne verige. Obstajajo pa tudi drugi obrambni mehanizmi, ki preprečujejo samodejno aktivacijo teh encimov. Prvi obrambni mehanizem je proteazni inhibitor SPINK1, ki aktivira tripsin in ga tudi sproti inaktivira. SPINK1 inhibira 20 % aktiviranega tripsina, pri preostalem deležu pa pride do samouničevanja (avtokatalize). Kadar obrambni mehanizem odpove, pride do kaskadne aktivacije vseh drugih proencimov, ki povzročijo avtodigestijo žleze in tvorbo citokinov (beljakovine z majhno molekulsko maso) iz poškodovanih celic. Citokini privabljajo v pankreas vnetne celice (granulocite in makrofage), ki se aktivirajo. Le-te povzročijo sproščanje vnetnih citokinov (interlevkini (IL-1, IL-6, IL-8), tumor nekroznega faktorja alfa (TNF alfa), trombocite aktivirajoči faktor (PAF), prostih kisikovih radikalov, levkocitnih proteaz in metabolitov arahidonske kisline. Aktivirajo se obrambni mehanizmi, ki pri blagi obliki pankreatitisa zaustavijo dogajanje in aktivacija kaskade je reverzibilna. Pri težjih oblikah pankreatitisa (nekrozantni pankreatitis) pa je koncentracija škodljivih spojin previsoka, kar vodi v okvaro žilnega endotelija in nastanek mikrotromboz. Posledica je huda motnja cirkulacije v žlezi, nato pa še v ostalih organih in tkivih (1, 4, 6).

1.1.2.2 Klinična slika

Vodilni simptom AP je močna bolečina v trebuhu, lokalizirana v žlički ali ob popku, ki se stopnjuje in seva pod oba rebrna loka proti ledvenemu predelu. Bolečina nastopi nenadno in po navadi že v 15 minutah doseže svoj maksimum in takšna tudi ostane. Bolnika sili na bruhanje ali pa res bruha, to je lahko hudo in neustavljivo (1, 2). Zgodnji pojav ikterusa (zlatenice) ali pa znaki akutnega holangitisa (vnetje žolčevoda) s temperaturo (do 39 °C) in mrzlico nastopijo takrat, kadar so vzrok za pankreatitis žolčni kamni (1, 4). Bolnik je prizadet, tahikarden, hipotenziven in dehidriran zaradi bruhanja. Trebuh je napet in občutljiv na dotik v žlički ali pod desnim rebrnim lokom, črevesne peristaltike navadno ni (1, 4, 7).

1.1.2.3 Diagnostika

Cilj diagnostike je potrditev AP in napoved poteka bolezni. Diagnostične možnosti, ki jih imamo, so **laboratorijske preiskave** in **slikovna diagnostika**, kasneje pa še preiskave, s katerimi ocenjujemo prognozo bolezni (opisano pod točko 1.1.2.4) (1).

Tabela I: Preiskave pri akutnem pankreatitisu

LABORATORIJSKE PREISKAVE <ul style="list-style-type: none">• Amilaza• lipaza• hemogram in diferencialna bela slika• hematokrit• CRP• elektroliti• kalcij• sečnina• kreatinin• lipidogram• krvni sladkor• jetrni testi: AST, ALT, AF, GGTP, bilirubin – celotni in direktni• plinska analiza arterijske krvi (ob saturaciji nižji kot 95 %)• protrombinski čas (PČ) in INR (International normalised ratio-mednarodno normalizirano razmerje) ob sumu na akutni biliarni pankreatitis
SLIKOVNE PREISKAVE <ul style="list-style-type: none">• RTG-slikanje pljuč in srca in nativno slikanje trebuha• ultrazvok ali CT trebuha

Diagnozo AP potrdimo z dokazom povišanih vrednosti serumske aktivnosti **amilaze** in **lipaze**, ki so zvišane pri 90 % bolnikov. Za diagnozo zadošča 3–5-kratno povišanje aktivnosti encimov. Pomemben podatek je tudi, kako dolgo so že prisotne bolečine. Amilaza se zviša kmalu po začetku napada, normalizira pa v dveh do treh dneh. Lipaza pa ostaja zvišana do en teden (1, 6).

V hemogramu so znaki hemokoncentracije, ki se kaže z zvišanim hematokritom in zvišano koncentracijo sečnine, levkocitoze in krvnega sladkorja (hiperglikemija). Pri bolnikih, ki močno bruhaajo, so prisotne tudi elektrolitske motnje (hipokaliemija). Hipokalcemija je značilen pojav pri hudem AP. CRP je zvišan pri bolnikih, kjer traja AP že več kot tri dni.

Pri AP so povišane tudi koncentracije trigliceridov v serumu, zvišanje nad 11 mmol/L pa pomeni hiperlipemični pankreatitis. Opravijo se tudi jetrni testi, zvišanje jetrnih encimov (AST, ALT, AF, GGTP) pa lahko opozarja na biliarni pankreatitis. Povišan je predvsem ALT, vendar ne več kot trikrat nad normalno vrednostjo. Ob zapori žolčevoda pa je zvišan bilirubin (tabela I) (1, 4, 6).

Od slikovnih preiskav se izvaja ultrazvok trebuha, nativna rentgenska slika trebuha in rentgenska slika srca in pljuč (tabela I) (1).

1.1.2.4 Napovedni dejavniki poteka pankreatitisa

Dejavniki tveganja se največkrat pokažejo v prvih urah ali dneh bolnišničnega zdravljenja, zato jih spremljamo ob sprejemu v bolnišnico ter po 24 in 48 urah po sprejemu.

Tabela II: Dejavniki tveganja za težko potekajoči akutni pankreatitis ob sprejemu v bolnišnico

- Starost nad 55 let
- Indeks telesne mase nad 30 (tel.teža/tel. višina²)
- Odpoved posameznih organskih sistemov, ocenjena s temi parametri:
 - sistolični tlak pod 90 mmHg
 - pO₂ pod 8 kPa
 - S-kreatinin nad 180 mmol/L po rehidraciji
 - gastrointestinalna krvavitev nad 500 ml na dan
 - plevralni izliv ali/in infiltrati v pljučih

Ocenjevanje resnosti

Resnost poteka bolezni ocenjujemo z več lestvicami. Nevarnost težkega poteka bolezni imajo bolniki, ki imajo več kot tri Ransonove kazalce (tabela III) v prvih 48 urah, več kot 8 točk po APACHE II lestvici ter odpoved posameznih organskih sistemov (1, 8). Ransonovi kazalniki (tabela III) temeljijo na enajstih kliničnih znakih. Prvih pet kazalcev merimo ob sprejemu in so namenjeni zgodnjemu sklepanju o jakosti bolezni. Druga skupina ima šest kazalcev, ki jih izmerimo v 48 urah in odražajo sistemske škodljive učinke cirkulirajočih spojin in posrednikov vnetja na tarčne organe (1, 4).

Prednost APACHE II lestvice je, da jo lahko uporabljamo za oceno stanja ves čas bolezni, medtem ko si z Ransonovimi kazalci lahko pomagamo samo prvih 48 ur (1, 4).

Napovedovalec hudega pankreatitisa je tudi visok dvig koncentracije CRP (> 150 mg/L) ali padec hematokrita, ki se ne popravlja (1).

Tabela III: Ransonovi kazalniki

PRI SPREJEMU V BOLNIŠNICO ALI OB DIAGNOSTIKI BOLEZNI	
Starost nad 55 let	AST nad 2,0 μ kat/L
Levkociti nad $16 \times 10^9/l$	LDH nad 5,83 μ kat/L
Krvni sladkor nad 10 mmol/L	
PO 48 URAH	
Padec hematokrita za več kot 10 %	
Porast sečnine nad 1,8 mmol/L navkljub nadomeščanju tekočine	
Serumski Ca pod 2 mmol/L	
pO ₂ pod 8 kPa	
Presežek baz nad 4 mmol/L	
Volumski deficit več kot 6 litrov tekočine	

1.1.3 KRONIČNI PANKREATITIS

Kronični pankreatitis (KP) je kronično vnetje TS, za katero je značilen napredujoči in nepopravljivi propad žleznega parenhima in fibroza. Na ta način pride do izgube eksokrine in endokrine funkcije žleze, to pa pripelje do postopnega popuščanja delovanja (žleza ne more izločati zadovoljivih količin encimov in bikarbonatov) (1, 2).

Razdelitev kroničnega pankreatitisa

Za razdelitev KP se uporablja klasifikacija M-ANNHEIM, ki je bila izdelana leta 2007. Klasifikacija M-ANNHEIM povezuje prognozo, etiologijo in stopnjo napredovanja bolezni. Temelji na tem, da je večina KP posledica medsebojnega delovanja več dejavnikov (**M**-multiple), katerih začetnice tudi predstavljajo ime klasifikacije: **A** (alcohol-alkohol), **N** (nicotine- nikotin), **N** (nutrition- prehrana), **H** (hereditary- dednost), **E** (efferent duct factors- dejavniki eferentnih vodov), **I** (immunological factors- imunski dejavniki), **M** (metabolic and miscellaneous factors- metabolni in drugi dejavniki). Glede

na klinično sliko ter bolečino in njeno jakost, je KP razvrščen še v pet stadijev (asimptomatski stadij 0 in v 4 simptomatske stadije) (1).

1.1.3.1 Etiologija in patogeneza

Najpogostejši vzrok KP pri odraslih je alkoholizem (70 %), pri otrocih pa je v glavnem povezan z dednostjo oz. genetskimi vzroki (cistična fibroza). Drugi vzroki (10 %) so redkejši, če pa za KP ne najdemo vzroka, govorimo o idiopatskem KP (20 %) (1, 10).

Patogeneza nastanka KP še vedno ni popolnoma pojasnjena, obstaja pa več teorij, ki jo poskušajo razložiti. V nastanek fibroze so predvsem udeležene pankreatične zvezdaste celice. Alkohol, njegovi metaboliti oksidativnega in neoksidativnega metabolizma in drugi poškodovanci acinarnih celic spodbudijo posredno ali neposredno preko mediatorjev kroničnega vnetja in rasti dejavnikov zvezdaste celice k tvorbi veziva. To vezivo ovira pankreatične duktule, povzroči stenozo in posledica tega je atrofija žleznega parenhima (1). AP pa naj bi bil svarilni dogodek za nastanek KP. Prva epizoda lahko v nekaterih primerih izzveni in se žleza popravi, pri občutljivih ljudeh pa se lahko začenejo procesi, ki vodijo v KP (1).

1.1.3.2 Klinična slika

Pri večini bolnikov je huda bolečina vodilni in pogosto tudi edini znak (5). Bolečina lahko v začetku bolezni nastopa v obliki ponavljajočih se akutnih napadov ali v obliki trajne bolečine v žlički (1). Bolečina pri KP lahko traja dneve, poslabša se po hranjenju in je lokalizirana v sredini zgornjega dela trebuha (epigastrij), pod levim rebrnim lokom in se širi v hrbet. Bolniku je lahko tudi slabo in bruha (1, 5). Drugi znak KP v razviti fazi je hujšanje in se pojavi pri 70 % bolnikov. V začetku je pogost vzrok sitofagija (strah pred hrano in bolečino) (5). Napad KP se pogosto sproži po pitju alkohola ali uživanju mastne hrane. To je posebno izrazito pri alkoholnem in hiperlipemičnem pankreatitisu. Pogost simptom KP je **steatoreja** (izločanje v blatu več kot 7g maščobe/dan), ki je posledica nepopolnega prebavljanja maščob zaradi pomanjkljivega delovanja pankreatične lipaze (1). Zaradi insuficience endokrinega dela, ki je odgovoren za izločanje inzulina, se lahko pri napredovanih oblikah KP pojavi sekundarna sladkorna bolezen (2). Med pogoste zaplete

KP štejejo tudi zaporno zlatenico in trombozo linearne vene ter anevrizmo linearne arterije (1).

1.1.3.3 Diagnostika

Diagnoza KP temelji na kombinaciji **klinične slike, laboratorijskih izvidov, morfološke diagnostike in funkcionalnih testov** (1, 10).

Laboratorijske preiskave začnemo po navadi z določanjem serumske **amilaze in lipaze**. Opravimo tudi ostale normalne preiskave. Pri 20 % bolnikov, ki imajo še dovolj funkcionalnega paranhima, ki tvori encime, so vrednosti amilaze in lipaze normalne ali rahlo povišane. Vrednosti elektrolitov so običajno normalne, razen v primeru, če bolnik močno bruha in ne uživa dovolj tekočine, se lahko pojavijo elektrolitske motnje. Normalno je tudi število levkocitov v serumu (1, 5, 10).

Pri majhnim delu bolnikov, ki imajo povečan pritisk pankrearičnega dela žolčevoda zaradi edema ali fibroze, lahko ugotovimo povišano raven direktnega bilirubina in alkalne fosfataze (10).

V blatu ugotavljamo količino maščob, hemotripsina in prisotnost drugih neprebavljenih ostankov hrane (vlaknine) in tako ocenjujemo primernost delovanja eksokrinega dela TS (2).

Morfološka diagnostika

KP s kalcinacijami je mogoče diagnosticirati z rentgenskim slikanjem trebuha (Rtg trebuha) in z ultrazvokom (UZ) trebuha (10). Kadar nam UZ ne daje dovolj podatkov, uporabimo še računalniško tomografijo (CT). Ostale tehnike, ki se uporabljajo, so endoskopski ultrazvok (EUZ) trebuha, računalniškotomografski pregled trebuha s kontrastom, MRCP in ERCP (1, 10). Najboljša metoda za diagnostiko zgodnjih in poznih sprememb KP je zagotovo ERCP. Ta metoda ima zelo dobro občutljivost in specifičnost za diagnozo KP. S preiskavo ugotovimo lokacijo in stopnjo sprememb pankreasnih vodov in lahko izvajamo tudi posege (1).

Funkcijski testi so lahko **direktni** ali **indirektni**. Uporabljajo se za oceno eksokrinega dela pankreasa (1, 5).

Z **direktnimi testi** merimo izločanje bikarbonata in pankreatičnih encimov in ugotavljamo sestavo pankreatičnega soka. Ti testi so agresivni, ker jih opravljamo z aspiracijo pankreatičnega soka iz dvanajstnika ali iz pankreatičnega voda.

Pri teh testih moramo spodbuditi žlezo k močnemu izločanju pankreatičnega soka s hrano (Lundhov test) ali z intravensko injekcijo sekretagoga (sekretina ali sekretina in holecistokinina) (tabela IV). Tehnično jih izvajamo tako, da uvedemo sondo v dvanajstnik, nato pa po spodbudi žleze aspiriramo pankreatični sok in ga analiziramo. Izmerimo volumen soka, koncentracijo bikarbonata, amilaze, lipaze in tripsina (1, 19).

Prednost direktnih testov je visoka občutljivost in specifičnost. Slabost pa, da so invazivni, dolgotrajni, dragi in so neprimerni za večkratno testiranje. Glavna pogoja za izvedbo tega testa sta pravilna lega sonde, ki se ne sme premakniti, in volja bolnika, da zdrži z vstavljenjo sondo eno uro. Večina bolnikov test odkloni, ker je neprijeten. Test izvaja le nekaj gastroenteroloških enot v Evropi in ZDA. V Sloveniji se ne izvaja (1, 20).

Indirektni pankreasni funkcijski testi potekajo brez sonde, so neagresivni in jih pogosteje uporabljamo v klinični praksi. Temeljijo na pretvorbi z barvilom ali izotopom označene kemične spojine, ki v dvanajstniku zapade encimski digestiji z enim od pankreatičnih encimov. Ob normalnem delovanju encimov lahko odcepljeni del molekule, ki je označen z barvilom ali izotopom, izmerimo v seču, v blatu ali v izdihanem zraku (dihalni test). Kadar pa je delovanje encimov zmanjšano, je namerjena koncentracija nižja ali pa je ni. Med to vrsto testov spadata NBT-PABA test in pankreolaurilni test.

Lahko pa merimo tudi pankreatične encime v blatu (elastazo in hemotripsin) ali določamo steatorejo z barvanjem stolice s Sudanskim barvilom (1, 19) (tabela IV).

Tabela IV: Funkcijski testi za oceno eksokrinega dela pankreasa (tabela je prirejena po 5, 20)

1. DIREKTNI TESTI:	2. INDIREKTNI TESTI:
<ul style="list-style-type: none"> • Lundhov test • sekretin cerulein test • sekretin in sekretin-holecistokininski test 	<ul style="list-style-type: none"> • NBT-PABA test • pankreolaurinski test • serumski tripsin • dihalni test • analiza blata: <ul style="list-style-type: none"> - maščobe (IR refleksijska metoda) - pankreatična elastaza-1 (ELISA) - hemotripsin (kolorimetrična metoda)

1.2 LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA PANKREATIČNIH ENCIMOV (AMILAZE IN LIPAZE) TER DIHALNI TESTI

Večina klinično-kemičnih preiskav TS je encimskih preiskav. Določanje α -amilaze in lipaze je danes osnova celotne diagnostike tega organa. Med najbolj uporabne laboratorijske preiskave v diagnostiki akutnega in kroničnega pankreatitisa sodi določanje katalitične aktivnosti α -amilaze in lipaze.

1.2.1 ALFA-AMILAZA (α -AMILAZA)

α -amilaza (EC 3.2.1.1) je encim iz razreda hidrolaz. Hidrolaze cepijo C-O, C-N ali C-S vezi z vključitvijo vode (reakcija hidrolize) (11, 12, 23).

α -amilaza katalizira hidrolizo α -1,4 glikozidne vezi v škrobu, glikogenu in amilopektinu. Končni produkt hidrolize pa so maltoza, dekstrini s kratkimi verigami in nekaj glukoze.

α -amilaza ima nizko molekulsko maso. Aktivna je v širokem območju pH 3,8–9,4, optimalno delovanje pa doseže pri pH 6,7–7,2. Je termostabilna in deluje tudi pri 50 °C. Aktivatorji α -amilaze so kloridni ioni, bromidni in jodidni ioni (nekoliko slabša aktivatorja), inhibitorji pa fluoridni, oksalatni in citratni ioni ter vsi antikoagulanti, razen heparina (11, 17, 23).

Informacijo za sintezo α -amilaze nosita dva različna gena, ki se nahajata na kromosomu 1. Mesto sinteze za prvi genotip so žleze slinavke (Amy-1 ali S-Amy), za drugi genotip pa eksokrini del trebušne slinavke (Amy-2 ali P-Amy). Sinteza poteka v mikrosomih endoplazmatskega retikuluma in jo v TS uravnava hormona sekretin in holecistokinin (5). Spada med sekretorne (sekrecijske encime), natančneje med ekskretorne, kar pomeni, da nastaja v celici, deluje pa izven nje.

Največ α -amilaze je v trebušni slinavki (sintetizirajo jo acinarne celice pankreasa), v manjših količinah pa jo najdemo tudi v žlezah slinavkah, jetrih, ledvicah, pljučih, maščobnem tkivu, mišicah.

Amilaza se z pankreatičnim sokom izloči v duodenum, zato jo je v duodenalnem soku največ. Pojavlja se tudi v plazmi, ker se nekaj encima vsrka iz črevesja v cirkulacijo. Iz cirkulacije se zaradi majhne molekulske mase prosto filtrira skozi ledvične glomerule, delno reabsorbira v tubulih in izloča v urin (11, 13). V urinu je 4 do 5-kratna večja aktivnost amilaze kot v serumu (5).

Izoencimi α -amilaze

Z merjenjem izoencimov lahko dobimo vpogled v izvor α -amilaze. α -amilaza, ki se nahaja v serumu ali urinu, lahko z elektroforezno ločbo razdelimo na različne frakcije. Dobimo 6–7 izoencimov. Najpomembnejša sta pankreatični izoencin (P-izoencin) in salivarni izoencin – encim ustne slinavke (S-izoencin). Imata pa podobne katalitične in imunske značilnosti, zato jih lahko ločimo le z monoklonskimi protitelesi. Po elektroforezi najdemo S-izoencin v področju β -globulinov, P-izoencin pa v področju γ -globulinov (11).

1.2.1.1 Diagnostični pomen α -amilaze in njenih izoencimov

Največji pomen ima merjenje α -amilaze pri **boleznih pankreasa (akutni pankreatitis)**.

Pri AP zasledimo v serumu in urinu močno povečano aktivnost amilaze. Povečevati se začne kmalu po začetku bolezni (3–12 ur), maksimum doseže po 24–36 urah, nato začne aktivnost upadati in se normalizira v 2–3 dneh. Ko aktivnost v serumu pade, se povečuje v urinu, kjer pa se vrednosti normalizirajo v 3–4 dneh (5, 11, 25). Zvišana serumska amilaza pa ni specifična za AP, lahko je zvišana še pri drugih boleznih s podobno klinično sliko (20).

Pri KP je aktivnost amilaze v serumu in urinu lahko normalna (v mejah referenčnih vrednosti) ali pa celo znižana. Hude nekroze pankreasa znižujejo aktivnost amilaze.

Hiperamilazemija s prevladujočim S-izoencimom je prisotna pri vnetju žlez slinavk (mumps), pri bolnikih s politravmo in pri pooperativnih stanjih.

Povečana aktivnost S-izoencima se pogosto pojavi tudi pri ženskah s prekinitvijo ektopične nosečnosti, pri karcinomu ovarijev in adenokarcinomu pljuč (ektopična sinteza S-izoencima).

Pri intraabdominalnih procesih (intestinalna obstrukcija, vnetje slepiča ...) se poviša aktivnost P-izoencima.

Posebna oblika hiperamilazemije v serumu je makroamilazemija, kjer se molekule α -amilaze vežejo z imunoglobulini IgA in IgG v makromolekularne komplekse, ki se v ledvicah ne filtrirajo v urin. Posledica je visoka aktivnost α -amilaze v serumu in znižana aktivnost v urinu. Sum na makroamilazemijo pokaže že amilazni indeks, ki je pod 0,01. Pojav je redek in se pojavlja pri 1–2 % preiskovancev (5, 11, 23, 25).

1.2.2 METODE ZA DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI ALFA-AMILAZE V SERUMU IN URINU

Nekoč so se uporabljale zelo različne metode za določanje katalitične aktivnosti α -amilaze: polikvativne, amiloklasične, saharogene, nefotometrijske in kromogene. Pri teh metodah so se uporabljali naravni (škrob, amiloza) ali umetni substrati in razni obarvani kromogeni (17).

Novejše metode temeljijo na hidrolitičnem delovanju encima, ki cepi topne fragmente iz netopnih polimerov škroba, na katerega je vezano barvilo. V zadnjem desetletju so kot substrat začeli uporabljati **maltooligosaharide** (G3, G4). Po razgradnji teh so merili **razgradne produkte oligosaharidov** (saharogeno merjenje) ali **obarvanost odcepljenih kromogenov**. Danes se uporabljata dve metodi z umetnimi substrati (11):

- metoda, pri kateri se uporablja substrat 4,6-etiliden(G7)-4-nitrofenil(G1)- α -D-maltoheptozid in
- metoda, pri kateri se uporablja substrat CNPG3.

1.2.3 LIPAZA

Lipaze (triacilglicerol acilhidrolaze, EC 3.1.1.3) so encimi iz razreda hidrolaz in podrazreda esteraz (5, 11). Katalizirajo hidrolizo estrov, predvsem trigliceridov, v maščobne kisline ter digliceride, monogliceride in glicerol. Lipaze razgrajujejo maščobe v zaužiti hrani, želodcu, dvanajstniku in tankem črevesu (18).

Glede na izvor in mesto delovanja, poznamo več vrst lipaz:

- pankreatična lipaza,
- jetrna lipaza,
- lizosomska lipaza,
- lipoproteinska lipaza (11).

Ko govorimo o diagnostičnih vrednostih lipaze, mislimo na lipazo trebušne slinavke (pankreatično lipazo), ki je najpomembnejša. V serumu so namreč tudi ostale lipaze, ki motijo določanje in zvišujejo vrednosti (5).

Pankreatična lipaza je glikoprotein z nizko molsko maso. Proizvajajo jo acinarne celice TS. V soku dvanajstnika in TS jo najdemo v zelo visoki koncentraciji. Ob prehodu lipaze iz TS v dvanajstnik oz. prebavni trakt je v kri prehaja le malo. Lipaza se prosto filtrira

skozi glomerule in popolnoma reabsorbira v proksimalnih tubulih, zato se v urin praviloma ne izloča. Prav tako kot α -amilaza spada med sekretorne (ekskretorne) encime. Za svoje delovanje lipaza potrebuje kolipazo in kalcijeve ione. Kolipaza je njen specifični dejavnik in je glikoprotein z nizko molsko maso. Izloča se skupaj z lipazo iz pankreasa v dvanajstnik, kjer ob navzočnosti žolčnih kislin skupno razgrajuje maščobe in omogoča njihovo resorpcijo (5, 11, 23).

1.2.3.1 Diagnostični pomen pankratične lipaze

V krvi je pankratična lipaza prisotna v zelo nizkih koncentracijah. Manj kot 1 % pankratične lipaze normalno prehaja iz pankreasa v limfo in nato v kri. Običajno razmerje med lipazo v duodenalnem soku in v krvi je od 500:1 do 800:1. Povišane vrednosti se v krvi (serumu) pojavljajo le v primeru bolezni pankreasa, ko se iz pankreasa v kri izloča večja količina lipaze.

Pri AP se pojavlja povečana aktivnost lipaze v serumu. Svoj maksimum doseže 3–6 ur po napadu, takrat so vrednosti tudi do 10-krat višje od referenčnih, nato pa začne aktivnost padati in se normalizira v treh tednih.

Pri CP je lahko aktivnost lipaze v mejah referenčnih vrednosti, včasih pa se lahko tudi rahlo poviša.

Pri 33 % bolnikov s cistami in karcinomom pankreasa je koncentracija katalitične aktivnosti lipaze povišana. Povišane vrednosti lahko najdemo tudi pri poškodbah trebuha (travme, operacije).

Znižana aktivnost lipaze v serumu pa se pojavi pri nekrozi pankreasa (1, 11, 23, 25).

Že dolgo je znano, da je v diagnostiki bolezni TS določanje lipaze v serumu klinično pomembnejše od določanja α -amilaze. Lipaza je za ta organ bolj specifična, pri bolezenskih stanjih so vrednosti bolj zvišane in tudi ostajajo zvišane dlje časa kot pri α -amilazi. Diagnostika AP pa je vseeno najzanesljivejša z določanjem obeh encimov (5).

1.2.4 METODE ZA DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI LIPAZE V SERUMU

Danes poznamo številne metode za merjenje koncentracije katalitične aktivnosti lipaze. Vse metode bazirajo na hidrolitični cepitvi trigliceridov ali digliceridov. Sproščanje

maščobnih kislin merimo s **titracijo** ali **z znižanjem motnosti** reakcijske zmesi (**turbidimetrično**). Uporabljajo se različni substrati (triolein ...) (11).

Metode za merjenje koncentracije katalitične aktivnosti lipaze so:

- turbidimetrična metoda s triacilglicerolom (trioleinom),
- turbidimetrična metoda, ki jo uporablja biokemijski analizator (kot substrat se uporablja 1,2-o-dilauril-rac-glicero-3-glutarična kislina- (6-metilresorufin) ester),
- kinetična avtomatska titracija maščobnih kislin,
- imunokemijske metode,
- merjenje glicerola (11).

1.2.5 DIHALNI TESTI

^{13}C dihalni test spada med indirektno pankreasne funkcijske teste. Je neinvazivna metoda za diagnostiko eksokrine funkcije pankreasa in diagnostiko bolezni pankreasa.

^{13}C dihalni test temelji na merjenju razmerja med stabilnima izotopoma ^{13}C in ^{12}C v izdihanem CO_2 po zaužitju testnega obroka s substratom, ki vsebuje ^{13}C (1, 20, 21, 24).

2 NAMEN DELA

Namen dela je, da pri skupini pacientov s postavljeno diagnozo akutni ali kronični pankreatitis, določimo katalitično aktivnost encimov α -amilaze in lipaze. Na osnovi tega, ali gre za akutni ali kronični pankreatitis, bomo ugotovili stopnjo povišanja oz. odstopanja za obe skupini skupaj in za posamezno skupino ter ujemanje rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze med seboj. Izračunali bomo še občutljivost in specifičnost metode za določanje aktivnosti amilaze in lipaze. Aktivnost, ki jo bomo dobili pri skupini bolnikov, bomo primerjali z aktivnostjo, ki jo bomo dobili pri skupini zdravih. Za določanje bomo uporabili vzorce pacientov iz Gastroenterološke klinike. Izvedli bomo še korelacijo z dihalnim testom.

Zato bomo:

- v raziskavo vključili 17 pacientov z AP, 18 s KP in 25 zdravih oseb (ki so predstavljali t.i. kontrolno skupino), ki jim je bila odvzeta kri;
- z metodo fotometrije izmerili aktivnost amilaze in lipaze v serumu;
- izračunali povprečno starost pacientov;
- izračunali povprečne vrednosti aktivnosti amilaze in lipaze pri kontrolni skupini, obeh skupinah pacientov in pri posamezni skupini pacientov;
- izračunali ujemanje rezultatov aktivnosti amilaze in lipaze med seboj pri kontrolni skupini, obeh skupinah pacientov in pri posamezni skupini pacientov;
- izračunali specifičnost in občutljivost uporabljene metode;
- izvedli korelacijo z dihalnim testom in vse rezultate grafično prikazali.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 SPLOŠNA OPOZORILA

Ves material, s katerim smo pri našem delu rokovali, smo obravnavali kot potencialno kužen in zato smo upoštevali vsa splošna navodila za varno rokovanje s kužnim materialom in analitskim sistemom.

3.2 PREISKOVANCI

V raziskavo smo vključili skupino zdravih oseb (obeh spolov), pri kateri smo pričakovali normalno aktivnost encimov, ter bolnike (obeh spolov), pri katerih smo pričakovali odstopanja od referenčnih vrednosti.

Preiskovanci so bili pacienti Gastroenterološke klinike Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. V obravnavanih skupinah je bilo 22 preiskovancev moškega spola in 13 preiskovank ženskega spola.

V kontrolno skupino smo uvrstili zdrave osebe (krvodajalce, ki so bili na dan odvzema pregledani in ugotovljeno je bilo, da so zdravi). Pri kontrolni skupini smo aktivnost encimov določili pri 7 moških in 18 ženskah.

Pri bolnikih in kontrolni skupini smo za korelacijo uporabili še rezultate dihalnih testov.

3.3 REFERENČNE VREDNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE (26, 27)

Orientacijske referenčne vrednosti α -amilaze za odrasle (za 37 °C):

- v serumu/plazmi: 0.47–1.67 μ kat/L (28–100 U/L).

Ena internacionalna enota (U) je aktivnost določenega encima, ki v 1 minuti katalizira pretvorbo 1 μ mol substrata. V serumu se izraža kot U/L.

En katal (kat) je izpeljana enota SI encimske aktivnosti. En katal (mol/s) predstavlja količino encima, ki pretvori 1 mol substrata v produkt v 1 sekundi. V serumu se izraža kot μ kat/L. Faktor pretvorbe iz U/L v μ kat/L je 0,0167 (11, 26, 31).

Orientacijske referenčne vrednosti lipaze za odrasle (za 37 °C):

- v serumu: 0.22–1.00 $\mu\text{kat/L}$ (13–60 U/L).

3.4 VZORCI, PRIMERNI ZA ANALIZO (26, 27)

α -amilaza:

- serum,
- plazma (Li-, Na-, NH_4^+ - heparin, EDTA) (vrednosti EDTA plazme so 5–10 % nižje od vrednosti seruma),
- urin.

Vzorci seruma in plazme so stabilni 7 dni pri 15–25 °C in 1 mesec pri 2–8 °C. Vzorci seruma morajo biti popolnoma koagulirani in po centrifugiranju ne smejo vsebovati nikakršnih delcev ali sledi fibrina. Lipemični ali zamrznjeni vzorci, ki so po odtalitvi postali motni, se morajo zbistriti s pomočjo centrifugiranja (10 minut pri cca. 15000 \times g) pred testiranjem.

Urin se zbira brez dodatkov. Vzorci so stabilni 2 dni pri 15–25 °C in 10 dni pri 2–8 °C. Primerni vzorci urina so lahko naključni ali 24-urni. Urin redčimo 1:10.

α -amilaza je nestabilna v kislem urinu. Zato naredimo test takoj ali pa pred skladiščenjem prilagodimo pH v alkalno območje (pH 7). Pred izvedbo testa vzorce, ki vsebujejo oborino, centrifugiramo.

Lipaza:

- serum,
- plazma: Heperin (Li-, Na- ali NH_4^+ -) plazma.

EDTA-, oksalat-, fluorid- ali citrati plazme privedejo do znižanja vrednosti rezultatov (zavirajo aktivnost lipaze).

Vzorci seruma in plazme so stabilni 7 dni pri 15–25 °C, 1 mesec pri 2–8 °C in 1 leto pri –15 do –25 °C.

3.5 METODE

3.5.1 DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI α -AMILAZE V SERUMU

Katalitično aktivnost α -amilaze smo izmerili na analizatorju Roche/Hitachi 917 po priporočilih IFCC. Določili smo jo z encimskim kolorimetričnim (barvnim) testom, s fotometrično detekcijo. Kalibracijo in nastavitvev ustreznih pogojev analizatorja, predpripravo vzorcev in samo analizo smo izvedli po navodilih proizvajalca (26). Analizator je avtomatsko izračunal aktivnost encimov, izraženo v enotah $\mu\text{kat/L}$ ($\text{U/L} \times 0.0167$).

3.5.1.1 Reagenti, kalibratorji, kontrole (26)

❖ Reagenti – delovne raztopine (Proizvajalec Roche):

- reagent R1:

HEPES* pufer: 52,4 mmol/L, pH 7,00 (37 °C); natrijev klorid: 87 mmol/L; magnezijev klorid: 12,6 mmol/L; kalcijev klorid: 0,075 mmol/L; α -glukozidaza (mikroorganizmi): ≥ 4 kU/L; konzervans;

- reagent R2:

HEPES* pufer: 52,4 mmol/L, pH 7,00 (37 °C); 4,6-etiliden-G₇PNP: 22 mmol/L; konzervans; stabilizator.

HEPES* = 2-[4-(2-hidroksietil)-1-piperazinkarboksilat]-etansulfonska kislina

❖ Kalibrator: S1: 0,9 % NaCl, S2: C.f.a.s (kalibrator za avtomatiziran sistem) (Proizvajalec Roche).

❖ Kontrole: PreciNorm U (QCS) ali PreciNorm U plus; PreciPath U (QCS) ali PreciPath U plus (Proizvajalec Roche).

3.5.1.2 Aparature in pribor

- Analizator Roche/Hitachi 917 (Proizvajalec Roche) (Slika 1),

- epruvete,

- stojalo za epruvete.



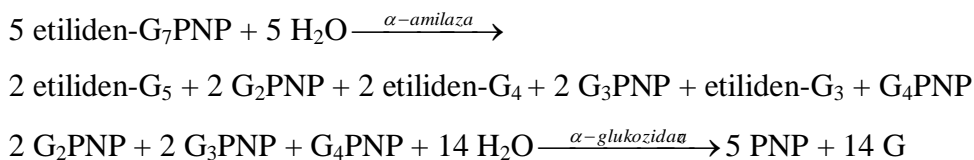
Slika 1: Analizator Roche/Hitachi 917

3.5.1.3 Kalibracija

Kalibriramo najmanj v časovnem obdobju, ki ga priporoča proizvajalec, ob vsaki menjavi reagenta oz. po potrebi.

3.5.1.4 Opis metode (14, 26, 28, 30)

Pred začetkom dela na biokemičnem analizatorju Roche/Hitachi 917 (slika 1) je bilo potrebno izenačiti vzorce in reagente s sobno temperaturo. Reagente in vzorce za merjenje katalitične aktivnosti α -amilaze smo vstavili v biokemični analizator Hitachi 917 (slika 1). Analizator ima čitalec črtnih kod za vzorce in reagente, sposobnost avtomatske kalibracije, rečitve vzorcev in ponovitve meritev. Analizator je avtomatsko odpipetiral vzorce (2–35 μ L) in reagente (35–270 μ L) v merilno kiveto reakcijskega krožnika. Reakcijsko zmes so premešali mešalci. Potekala je naslednja reakcija:



(PNP = p-nitrofenol; G = glukoza)

*Princip metode:*Encimsko kolorimetrični (barvni) test s p-nitrofenolom po IFCC:

- vzorec in dodatek R1 (pufer/encim),
- dodatek R2 (pufer/substrat) in start reagent.

Encim α -amilaza razgradi polimerni substrat na oligosaharide in barvilo. Nadalje cepi α -glukozidaza dobljene fragmente (oligosaharide) G2PNP, G3PNP in G4PNP na molekule glukoze in p-nitrofenol. Nastala intenziteta barve (rumena barva) p-nitrofenola je premosorazmerna aktivnosti α -amilaze in jo merimo fotometrično pri 405 nm.

Linearno območje je od 0,05 do 25,00 μ kat/L. Orientacijske referenčne vrednosti so navedene v točki 3.3.

Interference:

- ikterični vzorci (> 60 mg/dL ali $1026 \mu\text{mol/L}$),
- hemoliza (> 500 mg/dL ali $310 \mu\text{mol/L}$),
- lipemija (> 30 g/L),
- glukoza (> 2 g/L),
- askorbinska kislina (> 1 g/dL).

3.5.2 DOLOČANJE KATALITIČNE AKTIVNOSTI LIPAZE V SERUMU

Katalitično aktivnost lipaze smo izmerili na analizatorju Roche/Hitachi 917 (slika 1) po priporočilih IFCC. Določili smo jo z encimskim kolorimetričnim (barvnim) testom, s fotometrično detekcijo. Kalibracijo in nastavitve ustreznih pogojev analizatorja, predpripravo vzorcev in samo analizo smo izvedli po navodilih proizvajalca (27). Analizator je avtomatsko izračunal aktivnost encimov izraženo v enotah μ kat/L ($\text{U/L} \times 0.0167$).

3.5.2.1 Reagenti, kalibratorji, kontrole (27)

❖ Reagenti – delovne raztopine (Proizvajalec Roche):

- reagent R1:

BICIN* pufer: 50 mmol/L, pH 8,00; kolipaza (prašičja trebušna slinavka) $\geq 0,9$ mg/L; Na-deoksiholat: 1,6 mmol/L; kalcijev klorid: 10 mmol/L; detergent; konzervans;

- reagent R2:

Tartratni pufer: 10 mmol/L, pH 4,16; 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-glutarična kislina-(6-metilresorufin) ester: 0,27 mmol/L; taurodeoksiholat: 8,8 mmol/L; detergent; konzervans.

BICIN* = N,N-bis(2-hidroksietil)-glicin

- ❖ Kalibrator: S1: 0,9 % NaCl, S2: C.f.a.s (kalibrator za avtomatiziran sistem) (Proizvajalec Roche).
- ❖ Kontrole: PreciNorm U (QCS) ali PreciNorm U plus; PreciPath U (QCS) ali PreciPath U plus (Proizvajalec Roche).

3.5.2.2 Aparature in pribor

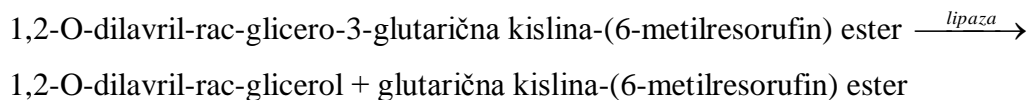
- Analizator Roche/Hitachi 917 (Proizvajalec Roche) (slika 1),
- epruvete,
- stojalo za epruvete.

3.5.2.3 Kalibracija

Kalibriramo najmanj v časovnem obdobju, ki ga priporoča proizvajalec, ob vsaki menjavi reagenta oz. po potrebi.

3.5.2.4 Opis metode (27, 29, 30)

Pred začetkom dela na biokemičnem analizatorju Roche/Hitachi 917 (slika 1) je bilo potrebno izenačiti vzorce in reagente s sobno temperaturo. Reagente in vzorce za merjenje katalitične aktivnosti lipaze smo vstavili v biokemični analizator Hitachi 917 (slika 1). Analizator ima čitalec črtnih kod za vzorce in reagente, sposobnost avtomatske kalibracije, rečitve vzorcev in ponovitve meritev. Analizator je avtomatsko odpipetiral vzorce (2–35 µL) in reagente (35–270 µL) v merilno kiveto reakcijskega krožnika. Reakcijsko zmes so premešali mešalci. Potekala je naslednja reakcija:



glutarična kislina-(6-metilresorufin) ester $\xrightarrow[\text{razpade}]{\text{spontano}}$ glutarična kislina + metilresorufin

Princip metode:

Encimsko kolorimetrična (barvna) metoda:

- vzorec in dodatek R1,
- dodatek R2 in start reagent.

Lipaza v prvi stopnji reakcije katalizira razpad kromogenega lipaznega substrata 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-glutarična kislina-(6-metilresorufin) estra (kompleks ester-kromogen-glicerol). Nastane 1,2-O-dilauril-rac-glicerol (glicerol) in nestabilni intermedianti, glutarična kislina-(6-metilresorufin) ester (kompleks ester- kromogen). Nastali kompleks spontano razpade na glutarično kislino in metilresorufin (kromogen). Intenziteta rdeče barve kromogena v reakcijski kivetki je prenosorazmerna aktivnosti lipaze v vzorcu. Merimo jo fotometrično (27, 29).

Linearno območje je od 0,05 do 5,00 $\mu\text{kat/L}$. Orientacijske referenčne vrednosti so navedene v točki 3.3.

Interference:

- ikterični vzorci ($> 60 \text{ mg/dL}$ ali $1026 \mu\text{mol/L}$),
- hemoliza ($> 500 \text{ mg/dL}$ ali $311 \mu\text{mol/L}$),
- lipemija ($> 22,8 \text{ mmol/L}$),
- uporaba nekaterih antikoagulantov (EDTA, oksalat, citrat, florid; inhibicija aktivnosti lipaze).

Po končani meritvi se reakcijska kiveta spere in je pripravljena na nov test. Ko so vse meritve opravljene, se rezultati, ki so v območju linearnosti, avtomatično prenesejo v LIS (laboratorijski informacijski sistem). V primeru, da rezultati meritev odstopajo iz območja linearnosti, analizator meritev avtomatično ponovi pri drugi razredčitvi vzorca.

3.5.3 FOTOMETRIJA

Pri obeh določenih katalitične aktivnosti (α -amilaze in lipaze) smo uporabljali fotometrično detekcijo.

Fotometrija oz. absorpcijska ali emisijska spektroskopija je inštrumentalna tehnika v klinično kemijskih laboratorijih. Fotometrija ali kolorimetrija na osnovi barve in barvnih sprememb določa koncentracijo snovi v vzorcu. Fotometrično merjenje pomeni določanje jakosti svetlobe, ne glede na valovno dolžino. Večina inštrumentov, ki jih uporabljamo za merjenje, izolira ozko območje spektra. Inštrumente, pri katerih v ta namen uporabljamo filtre, imenujemo fotometri, če pa uporabljamo prizme ali uklonske mrežice, se imenujejo spektrofotometri (15, 16).

3.5.4 DIHALNI TEST

Celoten postopek dihalnega testa vključuje spodaj naštet elemente.

Priprava preiskovanca:

Preiskovanec naj bo na dan testa tešč, imeti pa mora nizko oz. stabilno raven naravnega ^{13}C . Zato je potrebno dati bolniku navodila, naj se nekaj dni pred testom izogiba hrani, ki je obogatena s ^{13}C , kot so koruzni izdelki, sladkorni trs, ananas in žganje.

Priprava substrata označenega s ^{13}C :

Testni substrat lahko damo kot enostavno raztopino v vodi, z ali brez standardiziranega testnega obroka. Včasih mora biti vmešan v določeno sestavino obroka. Testni obrok in odmerek substrata sta lahko različna pri odraslih in otrocih (22).

Zbiranje vzorcev izdihanega zraka:

Če želimo določiti ^{13}C v izdihanem CO_2 , je potrebno dobiti najmanj dva vzorca izdihanega zraka pred zaužitjem določenega substrata z ^{13}C , da lahko določimo naravno ozadje ^{13}C (22). Prvi vzorec se vzame pred zaužitim testnim obrokom ob času nič minut. Pacient nato zaužije tekoči ali trdni obrok odvisno od preiskave. Nato poteka odvzem vzorcev največkrat v časovnem razmaku 15 oz. 30 minut (34). Ko preiskovanec zaužije substrat, obogaten z ^{13}C , se ta absorbira in vstopi v oksidativni metabolizem. Vključi se v različne

organske metabolizme, vključno s proteini, ogljikovimi hidrati, maščobami in bikarbonatom. Končni produkt oksidativnega metabolizma sta CO₂ in voda, ki ju izločimo z izdihom. Vzorec, ki ga analiziramo, je izdihan zrak, iz katerega ločimo CO₂ od ostalih sestavin zraka. Preiskovanec izdihava v za to namenjeno vrečo (20).

Merjenje ¹³C v izdihanem CO₂:

Na podlagi razlike v enem nevtronu med ¹³C in ¹²C lahko s tehniko masne spektrometrije razmerja izotopov (IRMS- Isotope Ratio Mass Spectrometry) določimo relativno vsebnost ¹³C v izdihanem CO₂.

Ob normalnem delovanju TS bo rezultat izdiha približno 300 mmol CO₂/m² telesne površine na uro. Če pa je funkcija TS zmanjšana, se zmanjša koncentracija encimov za prebavo hrane, temu primerno se zmanjšajo absorpcija, oksidacija in koncentracija izdihanega CO₂ iz pljuč (20).

Izračun končnega rezultata:

Končni rezultat se ponavadi podani kot odstotek izločenega ¹³C v izdihanem zraku glede na čas (% ¹³C/h) in kot odstotek kumulativne količine izločenega ¹³C v merjenem času (% izdihanega ¹³C). Izračun teh parametrov je natančneje opisan v nadaljevanju (34).

Izmerjena izotopska sestava se izraža z vrednostjo delta (δ), ki predstavlja relativno razliko (presežek) izotopske sestave raziskovanega vzorca (vz) glede na izbrani standard (st) in je izražen v promilih ‰ (enačba 1):

$$\delta = \frac{R_{vz} - R_{st}}{R_{st}} \cdot 1000 \quad (\text{enačba 1})$$

V enačbi 1, vrednost R pomeni razmerje med izotopi (¹³C/¹²C), simboli R_{vz} in R_{st} pa predstavljajo razmerje v vzorcu (vz) in standardu (st) (34).

Mednarodne standarde sta določila Mednarodna agencija za jedrsko energijo na Dunaju (IAEA - International Atomic Energy Agency) in Nacionalni inštitut za standarde in tehnologijo iz ZDA (NIST – National Institute of Standards and Technology). Za ogljik je vrednost R_{st} = 0,0112372 (34).

Delež (%) $^{13}\text{CO}_2$ v izdihanem zraku se za vsak vzorčen čas izračuna po enačbi 2:

$$\%^{13}\text{C}_{t_x} = \frac{\frac{\delta^{13}\text{C}_{t_x} + 1}{1000}}{\frac{1}{0,0112372} + \frac{\delta^{13}\text{C}_{t_x} + 1}{1000}} \cdot 100 \quad (\text{enačba 2})$$

Razlika oz. presežek % ^{13}C atoma glede na izmerjeno vrednost pred zaužitim obrokom ob času t_0 se izračuna po enačbi 3. Vrednost ^{13}C pred testnim obrokom nam da podatek, o običajni količini ^{13}C , ki se ga vnese v telo z zaužito hrano. Razlika % ^{13}C se uporablja za izražanje obsega obogatitve snovi, označene s stabilnim izotopom. Izmerjeno razmerje $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ pred zaužitim testnim obrokom in po njem, se spremeni ob prisotnosti aktivnega encima (34).

$$\%^{13}\text{C}_{t_x} = \%^{13}\text{C}_{t_x} - \%^{13}\text{C}_{t_0} \quad (\text{enačba 3})$$

Hitrost razgradnje označenega substrata glede na zaužito količino in čas t_0 , se izračuna po enačbi 4:

$$\%^{13}\text{C}/h = \frac{\frac{\%^{13}\text{C}_{t_x} \cdot V_{\text{CO}_2}}{100}}{\frac{\%^{13}\text{C}_{\text{sub}} - \%^{13}\text{C}_{t_0}}{100} \cdot \frac{m_{\text{sub}}}{M_{\text{sub}}}} \cdot 100\% \quad (\text{enačba 4})$$

kjer % $^{13}\text{C}_{\text{sub}}$ pomeni delež ^{13}C v označenem substratu in je po navadi 99%; CO_2 je volumen izdihanega ogljikovega dioksida izražen v $\text{mmol}/\text{h}/\text{m}^2$; m_{sub} je masa zaužitega substrata označenega s ^{13}C , izraženega v mg in M_{sub} je molska masa označenega substrata izraženega v g/mol (34).

Za izračun hitrosti razgradnje označenega substrata je potrebno poznati volumen izdihanega ogljikovega dioksida (V_{CO_2}) (34).

Volumen izdihanega ogljikovega dioksida je pri odraslem človeku v mirovanju, ocenjen s $5 \text{ mmol}/\text{min}/\text{površino telesa} (\text{m}^2)$ in se ga izračuna po enačbi 5. Telesna površina (BSA – Body Surface Area) pa se izračuna iz telesne teže v kilogramih in telesne višine v centimetrih po enačbi 6 (34).

$$V_{CO_2} = BSA(m^2) \cdot 5 \text{ mmol} / \text{min} / m^2 \cdot 60 \text{ min} / h \quad (\text{enačba 5})$$

$$BSA(m^2) = \sqrt{\frac{m(\text{kg}) \cdot h(\text{cm})}{3600}} \quad (\text{enačba 6})$$

Kumulativna količina ^{13}C , ki je izražena v odstotkih se izračuna po enačbi 7 in je definirana kot celotna količina ^{13}C , ki se izloči v izdihanem zraku v določenem času, glede na delež vnesenega ^{13}C s substratom (34).

$$\text{kumulativni } ^{13}\text{C} [\%] = \sum_i \frac{\%^{13}\text{C} / h(t_i) + \%^{13}\text{C} / h(t_{i-1})}{2} \cdot \frac{(t_i - t_{i-1})}{60} \quad (\text{enačba 7})$$

Na voljo imamo različne substrate, in sicer lipidne substrate (triolein, trioktanoin, tripalmitin, holesteril-oktanoat, holesteril-oleat, mešani trigliceridi), ki se uporabljajo za merjenje aktivnosti lipaze, ^{13}C obogateni škrob za amilazo, ^{13}C - dipeptidi pa za proteaze ali peptidaze.

Občutljivost metode je najboljša pri lipidnih substratih, ker se lipazna aktivnost zniža že v zgodnjih fazah bolezni pankreasa (20, 22, 24).

3.5.5 OBDELAVA PODATKOV

Ko smo opravili vse meritve in dobili rezultate aktivnosti α -amilaze in lipaze ter dihalnega testa, smo pričeli z vrednotenjem rezultatov. Pripravili smo grafe in statistične izračune dobljenih rezultatov za posamezno skupino pacientov. Za izdelovanje grafov in statistične izračune smo uporabili računalniška programa Excel in Spss.

4 REZULTATI

4.1 MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI KONTROLNI SKUPINI

- Celotna skupina zajema 25 zdravih oseb, ki predstavljajo kontrolno skupino; 7 moških (razpon starosti od 21 do 67 let, povprečna starost 45,3 let) in 18 žensk (razpon starosti od 21 do 62 let, povprečna starost 39,8 let). Povprečna starost vseh skupaj je 41,4 let (razpon starosti od 21 do 67 let) (tabela V).
- Vsem kontrolnim vzorcem smo izmerili aktivnost α -amilaze in lipaze v serumu (tabela V). Iz dobljenih rezultatov smo izračunali povprečne vrednosti aktivnosti α -amilaze in lipaze.
- Vse rezultate za kontrolno skupino smo statistično obdelali in jih ovrednotili.
- Pri kontrolni skupini smo opravili še dihalni test in rezultate uporabili za korelacijo (tabela V).

Tabela V: Rezultati meritev aktivnosti α -amilaze in lipaze ter dihalnega testa pri kontrolni skupini

Zaporedna številka kontrole	Starost	Spol	S- α -amilaza (μ kat/L)	S-lipaza (μ kat/L)	Dihalni test (%)
1	45	Ž	1,32	0,72	44,2
2	31	Ž	0,64	0,55	20,3
3	45	Ž	1,44	0,73	41
4	33	Ž	1,39	0,71	42,5
5	62	Ž	0,82	0,57	19
6	54	Ž	0,6	0,46	27
7	46	Ž	0,95	0,73	38
8	46	M	0,95	1,42	17,5
9	43	M	1,08	0,56	31,5
10	51	Ž	1,51	0,65	27,3
11	32	Ž	1,08	0,57	50,6
12	31	Ž	1	0,43	21
13	45	M	1,04	0,53	18,7
14	67	M	0,38	0,53	32
15	57	Ž	1,52	0,68	56,6
16	21	Ž	1,72	1,03	33,6

17	38	M	0,86	0,36	33,3
18	55	Ž	1,27	0,77	68
19	36	Ž	1,02	0,4	28,9
20	24	Ž	1,05	0,4	24
21	57	M	1,43	0,58	35,17
22	39	Ž	0,8	0,36	23
23	21	M	1,33	0,59	38,8
24	27	Ž	0,83	0,39	32
25	28	Ž	1,35	0,46	40,7

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S- α -amilaze pri kontrolni skupini je 1,0952 μ kat/L in pade znotraj podanih referenčnih območij za aktivnost S- α -amilaze. Območje aktivnosti je od 0,38 do 1,72 μ kat/L.

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S-lipaze pri kontrolni skupini je 0,6072 μ kat/L in pade znotraj podanih referenčnih območij za aktivnost S-lipaze. Območje aktivnosti je od 0,36 do 1,42 μ kat/L.

4.1.1 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI KONTROLNI SKUPINI

S pomočjo statističnega programa Spss smo preizkušali:

- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini porazdeljujejo normalno,
- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini ujemajo med seboj,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini.

4.1.1.1 Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini normalna

Z namenom, da bi preverili, če je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini normalna, smo izvedli Kolmogorov-Smirnov statistični test. Postavili smo ničelno in alternativno hipotezo:

H_0 : porazdelitev določenih aktivnosti je normalni;

H_A : porazdelitev določenih aktivnosti ni normalna.

Tabela VI: Rezultati testa za normalnost porazdelitve pri kontrolni skupini

	Kolmogorov-Smirnov test
S-α-amilaza	0,200
S-lipaza	0,041

Pri S- α -amilazi je signifikanca (p) 0,200 in je večja od stopnje tveganja alfa 0,05, zato smo sprejeli ničelno hipotezo (tabela VI). Rezultati aktivnosti α -amilaze pri kontrolni skupini so normalno porazdeljeni. Z enakim testom smo preverili tudi aktivnost lipaze pri kontrolni skupini.

Pri S-lipazi je signifikanca (p) 0,041 in je manjša od stopnje tveganja alfa 0,05, zato smo sprejeli alternativno hipotezo (tabela VI). Rezultati aktivnosti lipaze pri kontrolni skupini niso bili porazdeljeni normalno oz. statistično pomembno odstopajo od normalne porazdelitve.

Ker se obe spremenljivki (amilaza in lipaza) nista porazdeljevali normalno, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test.

4.1.1.2 Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini

Z namenom, da bi preverili, če se rezultati aktivnosti S- α -amilaze in S-lipaze pri kontrolni skupini ujemajo, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test. Test preverja hipotezi:

H_0 : rezultati določenih aktivnosti se ujemajo med seboj;

H_A : rezultati določenih aktivnosti se ne ujemajo med seboj.

Wilcoxonov test je pokazal, da je signifikanca (p) 0,000 in je manjša od stopnje tveganja alfa 0,05, zato sprejmemo alternativno hipotezo, ki pravi, da se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini ne ujemajo med seboj.

4.1.1.3 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini

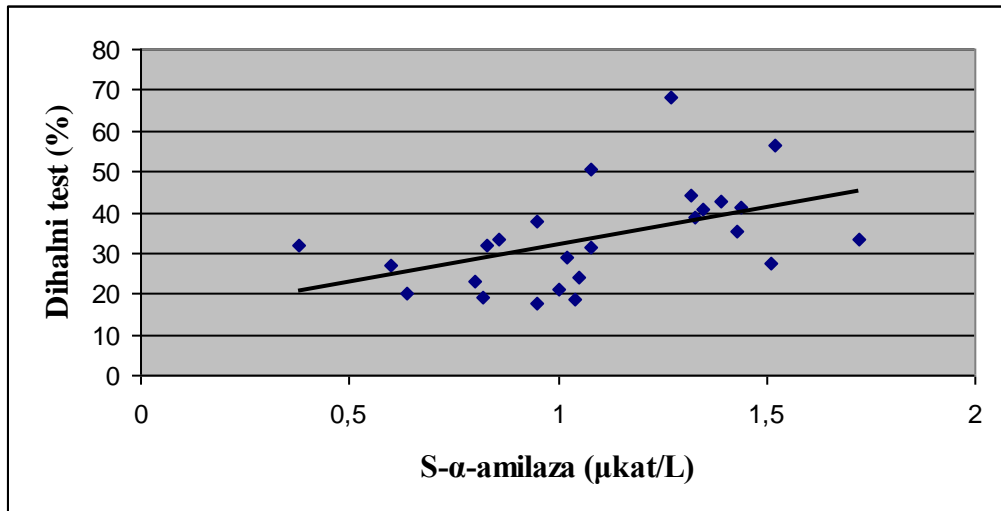
Z namenom, da bi preverili, če med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini obstaja korelacija, smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije.

Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je 0,478, kar pomeni, da je korelacija med opazovanima parametroma pozitivna in statistično pomembna (slika 2).

Za določanje moči povezanosti spremenljivk uporabljamo spodnjo lestvico vrednosti koeficienta, in sicer:

Vrednost koeficienta -> Moč povezanosti

- 0,00 -> ni povezanosti;
- 0,01 – 0,19 -> neznatna povezanost;
- 0,20 – 0,39 -> nizka/šibka povezanost;
- 0,40 – 0,69 -> srednja/zmerna povezanost;
- 0,70 – 0,89 -> visoka/močna povezanost;
- 0,90 – 0,99 -> zelo visoka/zelo močna povezanost;
- 1,00 -> popolna (funkcijska) povezanost (33).

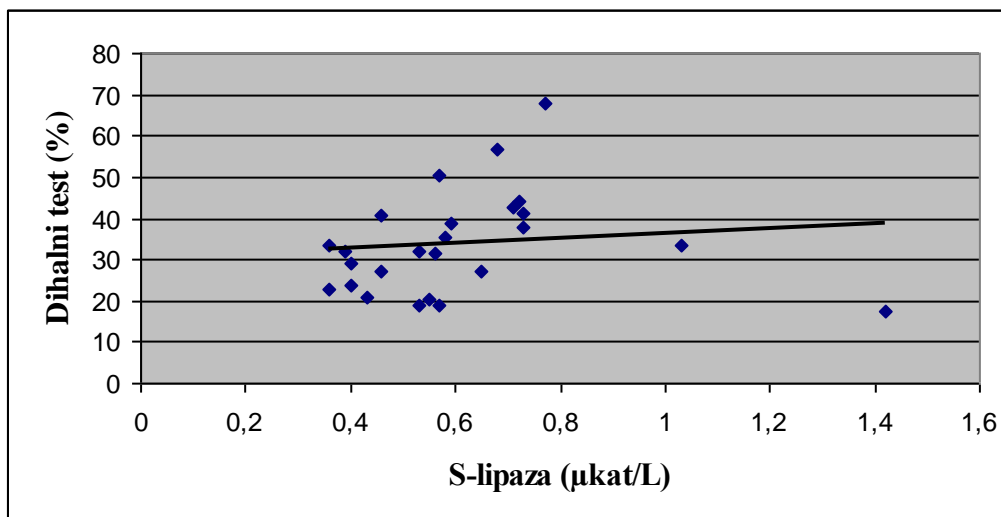


Slika 2: Graf korelacije med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini

4.1.1.4 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini

Z namenom, da bi preverili, če med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini obstaja korelacija, smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije.

Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je sicer pozitivna (0,110), a tako nizka, da med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije (slika 3).



Slika 3: Graf korelacije med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom pri kontrolni skupini

4.2 MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI OBEH SKUPINAH PACIENTOV (PACIENTI Z AKUTNIM IN KRONIČNIM PANKREATITISOM)

- Celotna skupina zajema 35 pacientov z akutnim ali kroničnim pankreatitisom; 22 moških (razpon starosti od 26 do 87 let, povprečna starost 54,6 let) in 13 žensk (razpon starosti od 46 do 78 let, povprečna starost 60,3 let). Povprečna starost vseh skupaj je 56,7 let (razpon starosti od 26 do 87 let) (tabela VII).
- Vsem pacientom smo izmerili aktivnost α -amilaze in lipaze v serumu (tabela VII). Iz dobljenih rezultatov smo izračunali povprečne vrednosti aktivnosti α -amilaze in lipaze.
- Rezultate za obe skupini pacientov smo statistično obdelali in ovrednotili.
- Pri obeh skupinah pacientov smo opravili še dihalni test in rezultate uporabili za korelacijo (tabela VII).

Tabela VII: Rezultati meritev aktivnosti α -amilaze in lipaze ter dihalnega testa pri obeh skupinah pacientov

Zaporedna številka pacienta	Starost	Spol	Diagnoza	S- α -amilaza (μ kat/L)	S-lipaza (μ kat/L)	Dihalni test (%)
1	54	M	AP	0,24	0,16	39,3
2	74	Ž	AP	1,42	0,72	31
3	47	Ž	AP	1,85	1,38	23,3
4	87	M	AP	0,72	0,56	26,9
5	35	M	AP	5,48	5,24	26,7
6	46	Ž	AP	2,33	5,67	19,2
7	78	Ž	AP	1,26	1,05	51,4
8	63	M	AP	0,5	4,18	28,5
9	30	M	AP	0,78	0,35	15,3
10	52	Ž	AP	1,06	1,58	24,4
11	44	M	AP	2,58	5,01	39,6
12	65	M	AP	1,66	1,19	37,4
13	52	M	AP	1,52	1,34	45
14	59	Ž	AP	0,8	0,5	24,8
15	26	M	AP	0,86	2,74	36
16	49	M	AP	1,56	1,21	20,5
17	59	M	AP	0,98	0,91	24,2
18	49	M	KP	1,51	2,4	49,9
19	62	M	KP	1,49	1	29,7

20	60	Ž	KP	1,5	3,9	53,1
21	53	Ž	KP	0,73	0,39	17
22	55	Ž	KP	0,63	0,64	9,2
23	67	M	KP	3,03	4,19	37
24	68	M	KP	1,63	1,2	29,4
25	49	Ž	KP	1,5	0,3	27
26	53	M	KP	1,33	0,24	54
27	75	Ž	KP	1,78	0,79	67
28	56	M	KP	0,83	0,5	25
29	52	M	KP	1,75	0,39	46,5
30	76	Ž	KP	0,62	0,37	38
31	49	M	KP	3,52	1,49	21
32	73	M	KP	0,76	0,27	30
33	49	M	KP	0,57	0,25	60
34	59	M	KP	3,73	1,01	3,1
35	60	Ž	KP	1,6	1,04	54

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S- α -amilaze pri celotni skupini pacientov je 1,57 μ kat/L in pade znotraj referenčnih vrednosti za S- α -amilazo.

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S-lipaze pri celotni skupini pacientov je 1,55 μ kat/L in ne pade znotraj referenčnih vrednosti za S-lipazo.

4.2.1 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI OBEH SKUPINAH PACIENTOV

S pomočjo statističnega programa Spss smo preizkušali:

- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov porazdelujeta normalno,
- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov ujemajo med seboj,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov.

4.2.1.1 Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov normalna

Za ugotovitev normalnosti porazdelitve smo izvedli Kolmogorov-Smirnov statistični test.

Testirali smo hipotezi:

H_0 : porazdelitev določenih aktivnosti je normalna;

H_A : porazdelitev določenih aktivnosti ni normalna.

Tabela VIII : Rezultati testa za normalnost porazdelitve pri obeh skupinah pacientov

	Kolmogorov-Smirnov test
S-α-amilaza	0,000
S-lipaza	0,000

Za S- α -amilazo in S-lipazo je signifikanca (p) 0,000 in je manjša od stopnje tveganja alfa 0,05 (tabela VII). Pri obeh spremenljivkah smo sprejeli alternativno hipotezo, ki pravi, da rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze za obe skupini pacientov niso bili porazdeljeni normalno oz. statistično pomembno odstopajo od normalne porazdelitve.

Ker se obe spremenljivki (amilaza in lipaza) nista porazdeljevali normalno, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test.

4.2.1.2 Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah pacientov

Z namenom, da bi preverili, če se rezultati aktivnosti S- α -amilaze in S-lipaze pri obeh skupinah ujemajo med seboj, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test. Test preverja hipotezi:

H_0 : rezultati določenih aktivnosti se ujemajo med seboj;

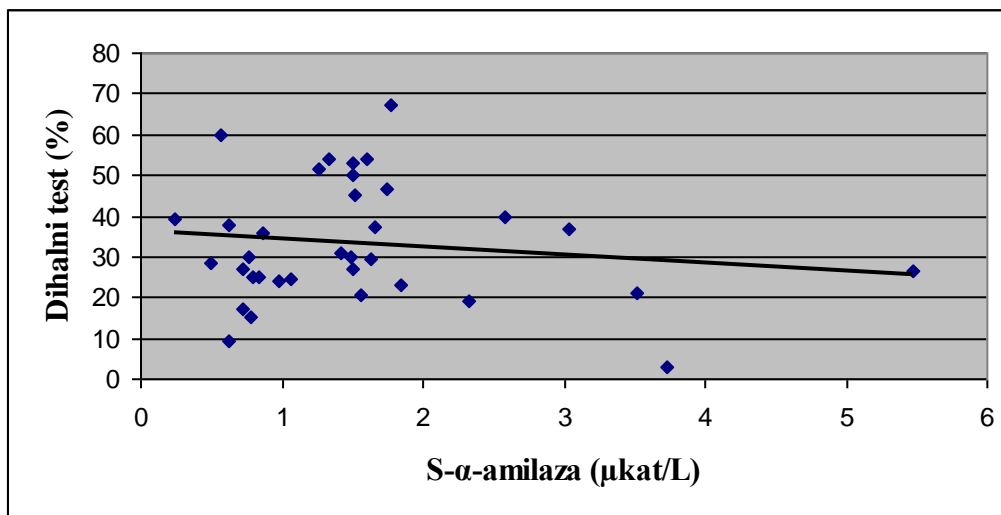
H_A : rezultati določenih aktivnosti se ne ujemajo med seboj.

Wilcoxonov test je pokazal, da je signifikanca (p) 0,169 in je večja od stopnje tveganja alfa 0,05, zato sprejmemo ničelno hipotezo, ki pravi, da se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri obeh skupinah ujemajo med seboj (med amilazo in lipazo ni statistično pomembnih razlik).

4.2.1.3 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov

Z namenom, da bi preverili, če med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov obstaja korelacija, smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije.

Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je sicer negativna ($-0,138$), a tako nizka, da med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije (slika 4).

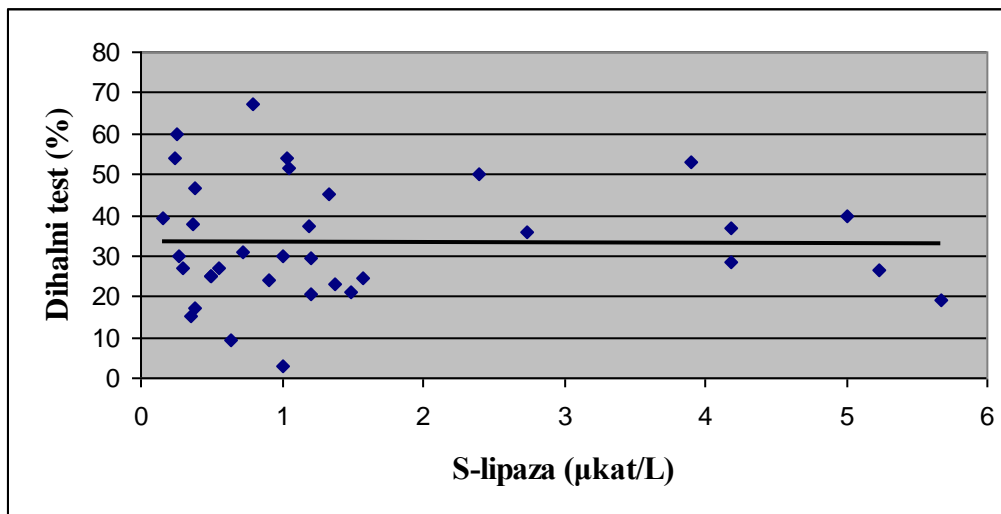


Slika 4: Graf korelacije med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov

4.2.1.4 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov

Z namenom, da bi preverili, kakšna je korelacija med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov, smo tudi tukaj izračunali Pearsonov koeficient korelacije.

Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je sicer negativna ($-0,009$), a tako nizka, da med opazovanima parametroma ni statistično pomembne korelacije (slika 5).



Slika 5: Graf korelacije med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov

4.3 MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI BOLNIKI Z AKUTNIM PANKREATITISOM

- Ta skupina zajema 17 pacientov z akutnim pankreatitisom; 11 moških (razpon starosti od 26 do 87 let, povprečna starost 51,3 let) in 6 žensk (razpon starosti od 52 do 78 let, povprečna starost 59,3 let). Povprečna starost vseh skupaj je 54,1 let (razpon starosti od 26 do 87 let) (tabela IX).
- Vsem pacientom smo izmerili aktivnost α -amilaze in lipaze v serumu (tabela IX). Iz dobljenih rezultatov smo izračunali povprečne vrednosti aktivnosti α -amilaze.

- Rezultate aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP smo statistično obdelali in ovrednotili.
- Pri vseh pacientih smo opravili še dihalni test in rezultate uporabili za korelacijo (tabela IX).

Tabela IX: Rezultati meritev aktivnosti α -amilaze in lipaze ter dihalnega testa pri bolnikih z AP

Zaporedna številka pacienta	Starost	Spol	Diagnoza	S- α -amilaza (μ kat/L)	S-lipaza (μ kat/L)	Dihalni test (%)
1	54	M	AP	0,24	0,16	39,3
2	74	Ž	AP	1,42	0,72	31
3	47	Ž	AP	1,85	1,38	23,3
4	87	M	AP	0,72	0,56	26,9
5	35	M	AP	5,48	5,24	26,7
6	46	Ž	AP	2,33	5,67	19,2
7	78	Ž	AP	1,26	1,05	51,4
8	63	M	AP	0,5	4,18	28,5
9	30	M	AP	0,78	0,35	15,3
10	52	Ž	AP	1,06	1,58	24,4
11	44	M	AP	2,58	5,01	39,6
12	65	M	AP	1,66	1,19	37,4
13	52	M	AP	1,52	1,34	45
14	59	Ž	AP	0,8	0,5	24,8
15	26	M	AP	0,86	2,74	36
16	49	M	AP	1,56	1,21	20,5
17	59	M	AP	0,98	0,91	24,2

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S- α -amilaze pri bolnikih z AP je 1,51 μ kat/L in pade znotraj referenčnih vrednosti za S- α -amilazo.

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S-lipaze pri bolnikih z AP je 1,98 μ kat/L in ne pade znotraj referenčnih vrednosti za S-lipazo.

4.3.1 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI AP

S pomočjo statističnega programa Spss smo preverjali:

- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP porazdelujeta normalno,
- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP ujemajo med seboj,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri AP,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri AP.

4.3.1.1 Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP normalna

Z namenom, da bi preverili, če je porazdelitev aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP normalna, smo izvedli Kolmogorov-Smirnov statistični test. Test preverja hipotezi:

H_0 : porazdelitev določenih aktivnosti je normalna;

H_A : porazdelitev določenih aktivnosti ni normalna.

Tabela X: Rezultati testa za normalnost porazdelitve pri AP

	Kolmogorov-Smirnov test
S-α-amilaza	0,038
S-lipaza	0,000

Pri S- α -amilazi je signifikanca (p) 0,038 in je manjša od stopnje tveganja alfa 0,05, zato smo sprejeli alternativno hipotezo (tabela X). Rezultati aktivnosti α -amilaze pri AP niso porazdeljeni normalno oz. statistično pomembno odstopajo od normalne porazdelitve. Z enakim testom smo preverili tudi aktivnost lipaze pri AP.

Pri S-lipazi je signifikanca (p) 0,000 in je manjša od alfa 0,05, zato smo sprejeli alternativno hipotezo (tabela X). Rezultati aktivnosti lipaze pri AP niso bili porazdeljeni normalno.

Ker se rezultati aktivnosti S- α -amilaze in S-lipaze niso porazdeljevali normalno, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test.

4.3.1.2 Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP

Z namenom, da bi preverili, če se rezultati aktivnosti S- α -amilaze in S-lipaze pri AP ujemajo med seboj, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test. Test preverja hipotezi:

H_0 : rezultati določenih aktivnosti se ujemajo med seboj;

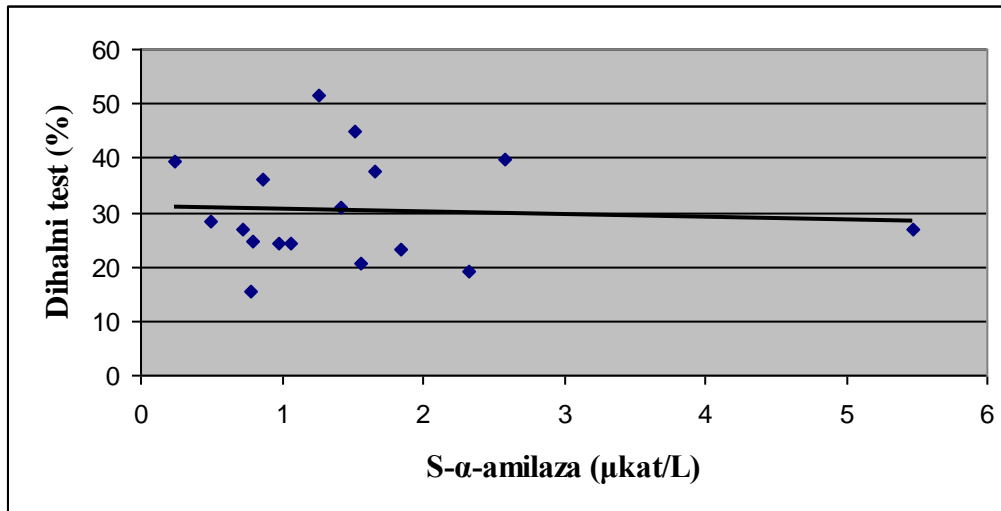
H_A : rezultati določenih aktivnosti se ne ujemajo med seboj.

Izid Wilcoxonovega testa je pokazal, da je signifikanca (p) 0,906 in je večja od stopnje tveganja alfa 0,05, zato smo potrdili ničelno hipotezo, ki pravi, da se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP ujemajo med seboj (ne obstaja signifikantna razlika v določenih aktivnostih).

4.3.1.3 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri AP

Z namenom, da bi preverili, če med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom pri AP obstaja korelacija, smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije.

Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je sicer negativna ($-0,059$), a tako nizka, da med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije (slika 6).

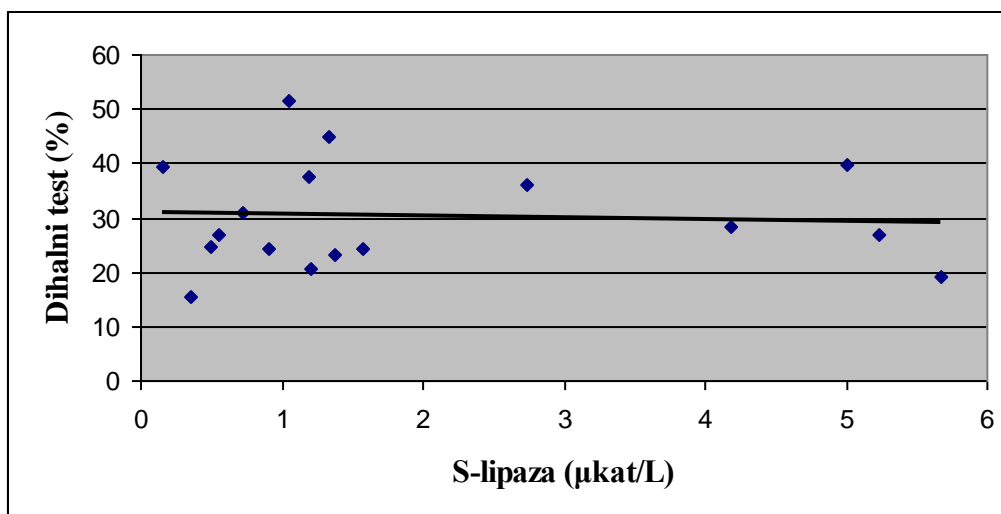


Slika 6: Graf korelacije med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom pri AP

4.3.1.4 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri AP

Z namenom, da bi preverili, če med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom pri AP obstaja korelacija, smo tudi tukaj izračunali Pearsonov koeficient korelacije.

Vrednost koeficienta korelacije je sicer negativna ($-0,066$), a tako nizka, da med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije (slika 7).



Slika 7: Graf korelacije med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom pri AP

4.4 MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE V SERUMU TER DIHALNI TEST PRI BOLNIKI S KRONIČNIM PANKREATITISOM

- Ta skupina zajema 18 pacientov s kroničnim pankreatitisom; 11 moških (razpon starosti od 49 do 73 let, povprečna starost 57,9 let) in 7 žensk (razpon starosti od 49 do 76 let, povprečna starost 61,1 let). Povprečna starost vseh skupaj je 59,2 let (razpon starosti od 49 do 76 let) (tabela XI).
- Vsem pacientom smo izmerili aktivnost α -amilaze in lipaze v serumu (tabela XI). Iz dobljenih rezultatov smo izračunali povprečno vrednost aktivnosti α -amilaze.
- Rezultate aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP smo statistično obdelali in ovrednotili.
- Pri vseh pacientih smo opravili še dihalni test in rezultate uporabili za korelacijo (tabela XI).

Tabela XI: Rezultati meritev aktivnosti α -amilaze in lipaze ter dihalnega testa pri bolnikih s KP

Zaporedna številka pacienta	Starost	Spol	Diagnoza	S- α -amilaza (μ kat/L)	S-lipaza (μ kat/L)	Dihalni test (%)
1	49	M	KP	1,51	2,4	49,9
2	62	M	KP	1,49	1	29,7
3	60	Ž	KP	1,5	3,9	53,1
4	53	Ž	KP	0,73	0,39	17
5	55	Ž	KP	0,63	0,64	9,2
6	67	M	KP	3,03	4,19	37
7	68	M	KP	1,63	1,2	29,4
8	49	Ž	KP	1,5	0,3	27
9	53	M	KP	1,33	0,24	54
10	75	Ž	KP	1,78	0,79	67
11	56	M	KP	0,83	0,5	25
12	52	M	KP	1,75	0,39	46,5
13	76	Ž	KP	0,62	0,37	38
14	49	M	KP	3,52	1,49	21
15	73	M	KP	0,76	0,27	30
16	49	M	KP	0,57	0,25	60
17	59	M	KP	3,73	1,01	3,1
18	60	Ž	KP	1,6	1,04	43

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S- α -amilaze pri bolnikih s KP je 1,58 μ kat/L in pade znotraj referenčnih vrednosti za S- α -amilazo.

Rezultat povprečne vrednosti aktivnosti S-lipaze pri bolnikih s KP je 1,13 μ kat/L in ne pade znotraj referenčnih vrednosti za S-lipazo.

4.4.1 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNEGA TESTA PRI KP

S pomočjo statističnega programa Spss smo preverjali:

- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP porazdeljujejo normalno,
- če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP ujemajo med seboj,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri KP,
- kakšna je korelacija med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri KP.

4.4.1.1 Statistično vrednotenje – ali je porazdelitev rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP normalna

Za ugotovitev normalnosti porazdelitve smo izvedli Kolmogorov-Smirnov statistični test.

Test preverja hipotezi:

H_0 : porazdelitev določenih aktivnosti je normalna;

H_A : porazdelitev določenih aktivnosti ni normalna.

Tabela XII: Rezultati testa za normalnost porazdelitve pri KP

	Kolmogorov-Smirnov test
S-α-amilaza	0,004
S-lipaza	0,003

Pri S- α -amilazi je signifikanca (p) 0,004, pri S-lipazi pa je 0,003 (tabela XII). To pomeni, da je pri obeh spremenljivkah signifikanca manjša od stopnje tveganja alfa 0,05, zato smo sprejeli alternativno hipotezo. Rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP niso porazdeljeni normalno oz. statistično pomembno odstopajo od normalne porazdelitve.

Ker se rezultati aktivnosti S- α -amilaze in S-lipaze niso porazdeljevali normalno, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test.

4.4.1.2 Statistično vrednotenje ujemanja rezultatov aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP

Z namenom, da bi preverili, če se rezultati aktivnosti S- α -amilaze in S-lipaze pri KP ujemajo med seboj, smo izvedli neparametrični Wilcoxonov test. Test preverja hipotezi:

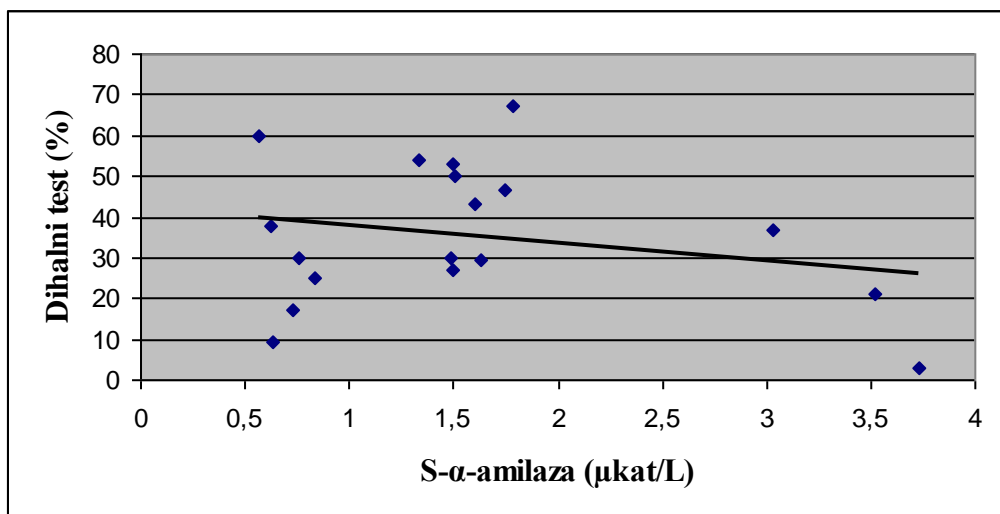
H₀: rezultati določenih aktivnosti se ujemajo med seboj;

H_A: rezultati določenih aktivnosti se ne ujemajo med seboj.

Izid Wilcoxonovega testa je pokazal, da je signifikanca (p) 0,053 in je večja od stopnje tveganja alfa 0,05, zato smo potrdili ničelno hipotezo, ki pravi, da se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri KP ujemajo med seboj (ne obstaja signifikantna razlika v določenih aktivnostih). Rezultat ni statistično pomemben, je pa zelo mejen.

4.4.1.3 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pri KP

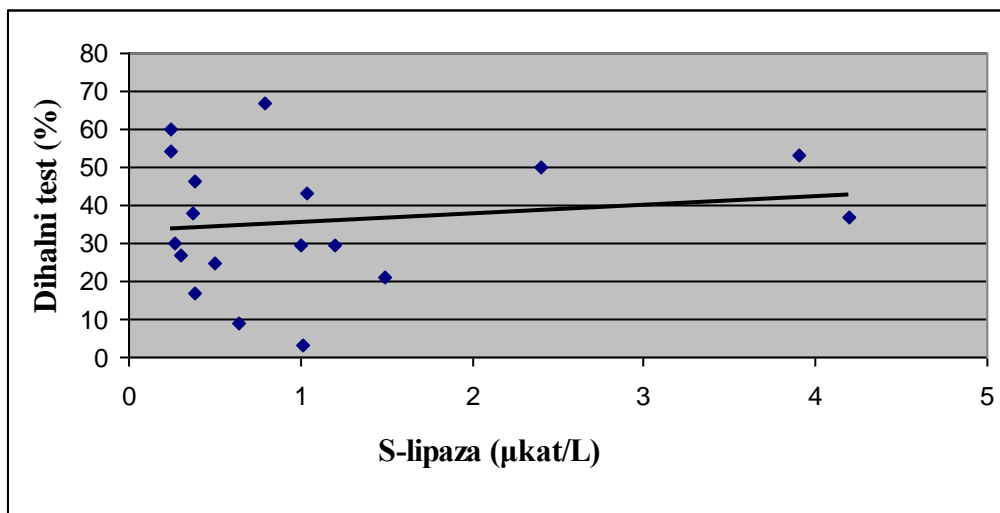
Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je sicer negativna (-0,231), a tako nizka, da med opazovanima parametroma ni statistično pomembne korelacije (slika 8).



Slika 8: Graf korelacije med aktivnostjo S- α -amilaze in dihalnim testom

4.4.1.4 Statistično vrednotenje korelacije med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pri KP

Vrednost koeficienta korelacije (Pearsonov r) je sicer pozitivna (0,151), a tako nizka, da med aktivnostjo S-lipaze in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije (slika 9).



Slika 9: Graf korelacije med aktivnostjo S-lipaze in dihalnega testa pri KP

4.5 IZRAČUN KLINIČNE OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE

OBČUTLJIVOST je verjetnost pozitivnega izida testa pri osebah, pri katerih je bolezen prisotna in kaže delež oseb z boleznijo, pri katerih je test pozitiven (33).

Občutljivost izračunamo po formuli (16):

$$\text{Občutljivost (\%)} = \left[\frac{RP}{RP + LN} \right] \times 100$$

SPECIFIČNOST je verjetnost negativnega izida testa pri osebah, ki nimajo boleznii in kaže delež oseb brez boleznii, pri katerih je test negativen (33).

Specifičnost izračunamo po naslednji formuli (16):

$$\text{Specifičnost (\%)} = \left[\frac{RN}{RN + LP} \right] \times 100$$

Tabela XIII: Tabela za izračunavanje parametrov klinične občutljivosti in specifičnosti (16)

	Poz	Neg	Vsi
Poz	RP	LP	RP+LP
Neg	LN	RN	RN+LN
Vsi	RP + LN	LP + RN	VSI

4.5.1 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE PRI BOLNIKIHZ AP IN PRI KONTROLNI SKUPINI

Tukaj smo izračunali klinično občutljivost in specifičnost metode za določanje aktivnosti α -amilaze. V izračune občutljivosti metode smo vključili 17 pacientov z diagnozo AP (tabela IX) in v izračune specifičnosti metode 25 zdravih oseb (kontrolna skupina) (tabela V). Pri skupini z AP smo lahko glede na rezultate aktivnosti amilaze pri 4 pacientih potrdili resnično pozitiven rezultat (tabela XIV). Rezultati aktivnosti amilaze, pri katerih smo dobili resnično pozitiven rezultat, so bili nad 1,67 μ kat/L.

Tabela XIV: Prikaz rezultatov meritev aktivnosti α -amilaze pri AP in kontrolni skupini

	Poz	Neg	Vsi
Poz	4	1	5
Neg	13	24	37
Vsi	17	25	42

- **Občutljivost:**

$$RP/RP+LN (\%) = 4/4+13 = 0,24 \times 100\% = 24\%$$

Metoda za določanje aktivnosti α -amilaze pri bolnikih z AP ima 24 % občutljivost. To pomeni, da v 24 % primerov potrjenega obolenja določimo zvišane aktivnosti α -amilaze, v ostalih primerih pa normalne. Ta metoda v 76 % daje lažno negativne rezultat.

- **Specifičnost:**

$$RN/RN+LP (\%) = 24/24+1 = 0,96 \times 100\% = 96\%$$

Metoda za določanje aktivnosti α -amilaze pri kontrolni skupini ima 96 % specifičnost. To pomeni, da v 96 % primerov, ki nimajo potrjenega obolenja določimo normalne aktivnosti α -amilaze, v ostalih primerih pa zvišane. Ta metoda v 4 % daje lažno pozitivne rezultate.

4.5.2 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI LIPAZE PRI BOLNIKI Z AP IN PRI KONTROLNI SKUPINI

Tukaj smo izračunali klinično občutljivost in specifičnost metode za določane aktivnosti lipaze. V izračune občutljivosti metode smo vključili 17 pacientov z diagnozo AP (tabela IX) in v izračune specifičnosti metode 25 zdravih oseb (kontrolna skupina) (tabela V). V skupini z AP smo lahko glede na rezultate aktivnosti lipaze pri 11 pacientih potrdili resnično pozitiven rezultat (tabela XV). Rezultati aktivnosti lipaze, pri katerih smo dobili resnično pozitiven rezultat, so bili nad 1,00 μ kat/L.

Tabela XV: Prikaz rezultatov meritev aktivnosti lipaze pri AP in kontrolni skupini

	Poz	Neg	Vsi
Poz	11	2	13
Neg	6	23	29
Vsi	17	25	42

- **Občutljivost:**

$$RP/RP+LN (\%) = 11/11+6 = 0,65 \times 100\% = 65\%$$

Metoda za določanje aktivnosti lipaze pri bolnikih z AP ima 65 % občutljivost. To pomeni, da v 65 % primerov potrjenega obolenja določimo zvišane aktivnosti lipaze, v ostalih primerih pa normalne. Ta metoda v 35 % daje lažno negativne rezultat.

- **Specifičnost:**

$$RN/RN+LP (\%) = 23/23+2 = 0,92 \times 100\% = 92\%$$

Metoda za določanje aktivnosti lipaze pri kontrolni skupini ima 92 % specifičnost. To pomeni, da v 92 % primerov, ki nimajo potrjenega obolenja določimo normalne aktivnosti lipaze, v ostalih primerih pa zvišane. Ta metoda v 8 % daje lažno pozitivne rezultate.

4.5.3 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE PRI BOLNIKI S KP IN PRI KONTROLNI SKUPINI

Tukaj smo izračunali klinično občutljivost in specifičnost metode za določanje aktivnosti α -amilaze. V izračune občutljivosti metode smo vključili 18 pacientov z diagnozo KP (tabela XI) in v izračune specifičnosti metode 25 zdravih oseb (kontrolna skupina) (tabela V). V skupini s KP smo lahko glede na rezultate aktivnosti amilaze pri 5 pacientih potrdili resnično pozitiven rezultat (tabela XVI). Rezultati aktivnosti amilaze, pri katerih smo dobili resnično pozitiven rezultat, so bili nad 1,67 μ kat/L.

Tabela XVI: Prikaz rezultatov meritev aktivnosti α -amilaze pri KP in kontrolni skupini

	Poz	Neg	Vsi
Poz	5	1	6

Neg	13	24	37
Vsi	18	25	43

- **Občutljivost:**

$$RP/ RP+LN (\%) = 5/5+13 = 0,28 \times 100\% = 28\%$$

Metoda za določanje aktivnosti α -amilaze pri bolnikih s KP ima 28 % občutljivost. To pomeni, da v 28 % primerov potrjenega obolenja določimo zvišane aktivnosti α -amilaze, v ostalih primerih pa normalne. Ta metoda v 72 % daje lažno negativne rezultat.

- **Specifičnost:**

$$RN/ RN+LP (\%) = 24/24+1 = 0,96 \times 100\% = 96\%$$

Metoda za določanje aktivnosti α -amilaze pri kontrolni skupini ima 96 % specifičnost. To pomeni, da v 96 % primerov, ki nimajo potrjenega obolenja določimo normalne aktivnosti α -amilaze, v ostalih primerih pa zvišane. Ta metoda v 4 % daje lažno pozitivne rezultate.

4.5.4 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI METODE ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI LIPAZE PRI BOLNIKI S KP IN PRI KONTROLNI SKUPINI

Tudi tukaj smo izračunali klinično občutljivost in specifičnost metode za določanje aktivnosti lipaze. V izračune občutljivosti metode smo vključili 18 pacientov z diagnozo KP (tabela XI) in v izračune specifičnosti metode 25 zdravih oseb (kontrolna skupina) (tabela V). V skupini s KP smo lahko glede na rezultate lipaze pri 7 pacientih potrdili resnično pozitiven rezultat (tabela XVII). Rezultati aktivnosti lipaze, pri katerih smo dobili resnično pozitiven rezultat, so bili nad 1,00 μ kat/L.

Tabela XVII: Prikaz rezultatov meritev aktivnosti lipaze pri KP in kontrolni skupini

	Poz	Neg	Vsi
Poz	7	2	9
Neg	11	23	34
Vsi	18	25	43

- **Občutljivost:**

$$RP/ RP+LN (\%) = 7/7+11 = 0,39 \times 100\% = 39\%$$

Metoda za določanje aktivnosti lipaze pri bolnikih s KP ima 39 % občutljivost. To pomeni, da v 39 % primerov potrjenega obolenja določimo zvišane aktivnosti lipaze, v ostalih primerih pa normalne. Ta metoda v 61 % daje lažno negativne rezultate.

- **Specifičnost:**

$$RN/ RN+LP (\%) = 23/23+2 = 0,92 \times 100\% = 92\%$$

Metoda za določanje aktivnosti lipaze pri kontrolni skupini ima 92 % specifičnost. To pomeni, da v 92 % primerov, ki nimajo potrjenega obolenja določimo normalne aktivnosti lipaze, v ostalih primerih pa zvišane. Ta metoda v 8 % daje lažno pozitivne rezultate.

4.6 RAZPRAVA

4.6.1 MERJENJE AKTIVNOSTI A-AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNI TEST PRI KONTROLNI SKUPINI

Pri diplomski nalogi smo najprej ovrednotili rezultate kontrolne skupine, ki je zajemala 25 zdravih oseb obeh spolov. Kontrolni skupini smo z metodo spektrofotometrije izmerili aktivnost α -amilaze in lipaze ter opravili dihalni test. Na podlagi rezultatov smo izračunali povprečne vrednosti aktivnosti α -amilaze in lipaze in na ta način poskušali ugotoviti, če

odstopajo od referenčnih vrednost. Rezultati so pokazali, da je povprečna vrednost aktivnosti α -amilaze 1,0952 μ kat/L in ne odstopa od podanih referenčnih vrednosti. Povprečna vrednost aktivnosti lipaze pa je 0,6072 μ kat/L in prav tako pade znotraj podanih referenčnih vrednosti. Iz rezultatov povprečnih vrednosti smo ugotovili, da pri kontrolni skupini aktivnost α -amilaze in lipaze ne odstopata od referenčnih vrednosti.

V drugem delu naloge smo ugotavljali, če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini porazdeljujejo normalno. Postavili smo ničelno in alternativno hipotezo. Pri α -amilazi smo sprejeli ničelno hipotezo, ki pravi, da so rezultati aktivnosti α -amilaze normalno porazdeljeni. Pri lipazi pa smo zavrnilo ničelno hipotezo, ker se rezultati aktivnosti lipaze niso porazdeljevali normalno. Na podlagi teh rezultatov smo nato izvedli neparametrični Wilcoxonov test. Z njim smo ugotavljali, če se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri kontrolni skupini ujemajo med seboj. Rezultati so pokazali, da se ne ujemajo med seboj, zato smo zavrnilo ničelno hipotezo.

Za kontrolno skupino je bilo pričakovano, da se bodo rezultati aktivnosti obeh encimov porazdeljevali normalno. Iz rezultatov pa je razvidno, da se rezultati aktivnosti α -amilaze porazdeljujejo normalno, rezultati aktivnosti lipaze pa ne (rezultat je bil zelo mejen). Za takšen rezultat so možni vzroki, da preiskovanci pred odvzemom krvi niso bili zadosti časa tešči in da je bila v obravnavani skupini zelo široka razpršenost glede na leta preiskovancev. Na rezultate je lahko vplival tudi spol.

V tretjem delu naloge smo ugotavljali, kakšna je korelacija med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom ter aktivnostjo lipaze in dihalnim testom. Izračunali smo Pearsonov koeficient korelacije. Ugotovili smo, da je korelacija med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom pozitivna in statistično pomembna. Med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom pa ni statistično pomembne korelacije.

4.6.2 MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNI TEST PRI OBEH SKUPINAH PACIENTOV

Tukaj smo se osredotočili na obe skupini pacientov, tako na paciente z AP kot na paciente s KP. Celotna skupina je zajemala 35 pacientov, ki smo jim izmerili aktivnost α -amilaze in lipaze v serumu ter opravili dihalni test. Iz dobljenih rezultatov smo izračunali povprečne

vrednosti aktivnosti α -amilaze ter lipaze in tako poskušali ugotoviti, če odstopajo od referenčnih vrednosti. Rezultati so pokazali, da je povprečna vrednost aktivnosti α -amilaze 1,57 μ kat/L in ne odstopa od referenčnih vrednosti. Za aktivnost lipaze pa je povprečna vrednost 1,55 μ kat/L in odstopa od referenčnih vrednosti. Iz teh rezultatov smo ugotovili, da pri obeh skupinah pacientov aktivnost lipaze odstopa.

V drugem delu naloge smo ugotavljali, če se rezultati aktivnosti obeh encimov porazdeljujejo normalno. Ugotovili smo, da se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze niso porazdeljevali normalno. Z Wilcoxonovim testom smo nato tudi tukaj ugotavljali, če se rezultati aktivnosti teh dveh encimov ujemajo med seboj. Rezultati so pokazali, da se rezultati aktivnosti α -amilaza in lipaza ujemajo med seboj, zato smo sprejeli ničelno hipotezo.

Določali smo še, kakšna je korelacija med aktivnostjo obeh encimov in dihalnim testom. Na podlagi dobljenih rezultatov smo ugotovili, da med aktivnostjo α -amilaze in dihalnim testom ter med aktivnostjo lipaze in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije. Ta dva testa ne zajemata bolezenskih sprememb na istem nivoju, zato je tudi pričakovati da ne bosta dobro korelirala. Aktivnost encima je odvisna metabolizma tekom cele prebavne cevi (od ust do tankega črevesa), dihalni test pa pokaže samo trenutno stanje v želodcu.

4.6.3 MERJENJE AKTIVNOSTI α -AMILAZE IN LIPAZE TER DIHALNI TEST PRI PACIENTIH Z AP IN KP

V tem delu naloge smo za posamezno skupino pacientov naredili izračune povprečnih vrednosti. Pri AP je bila povprečna vrednost aktivnosti α -amilaze 1,51 μ kat/L in pade znotraj referenčnih vrednosti. Aktivnost lipaze pa je bila 1,98 μ kat/L in ne pade znotraj referenčnih vrednosti. Pri KP je bila povprečna vrednost aktivnosti α -amilaze 1,58 μ kat/L in ne odstopa, aktivnost lipaze pa odstopa, ker je bil rezultat povprečne vrednosti 1,13 μ kat/L. Iz teh rezultatov smo ugotovili, da pri AP in KP aktivnost lipaze odstopa.

Aktivnost amilaze se pri AP zviša kmalu po začetku napada, normalizira pa se v dveh do treh dneh. Aktivnost lipaze pa ostaja zvišana dlje, tudi en teden (1). Iz teh rezultatov smo lahko ugotovili, da se je pri AP aktivnost amilaze že znižala, ko je bila aktivnost lipaze še povišana.

Pri KP je aktivnost amilaze manj izražena, lahko se nahaja tudi v mejah referenčnih vrednosti. Aktivnost lipaze pa je lahko v mejah referenčnih vednosti, včasih pa se lahko tudi rahlo poviša (11). Iz rezultatov smo ugotovili, da je pri KP aktivnost amilaze normalna, aktivnost lipaze pa je rahlo povišana.

V naslednjem delu naloge smo ugotavljali, če so rezultati aktivnosti obeh encimov pri AP in KP porazdeljeni normalno. Rezultati so pokazali, da se tako pri AP kot pri KP rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze ne porazdeljujejo normalno. Zavrnilo smo ničelno hipotezo. Z Wilcoxonovim testom smo nato ugotavljali, ali se rezultati ujemajo med seboj. Izid testa je pokazal, da se rezultati aktivnosti α -amilaze in lipaze pri AP in KP ujemajo med seboj, zato smo potrdili ničelno hipotezo.

Določali smo še, kakšna je korelacija med aktivnostjo obeh encimov in dihalnim testom. Pri AP in KP so ugotovili, da med α -amilazo in dihalnim testom ter lipazo in dihalnim testom ni statistično pomembne korelacije.

Če primerjamo vse rezultate s kontrolno skupino, ugotovimo, da vse vrednosti pri kontrolni skupini padejo v referenčno območje, medtem ko pri AP in KP aktivnost lipaze odstopa. Pri kontrolni skupini se rezultati aktivnosti amilaze in lipaze ne ujemajo med seboj, pri obeh skupinah pacientov pa se ujemajo med seboj. Iz tega lahko ugotovimo, da med bolnimi in zdravimi preiskovanci lahko dokažemo statistično signifikantno razliko.

4.6.4 IZRAČUN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI

V prvem primeru smo ugotavljali, kakšna je občutljivost metode za določanje aktivnosti α -amilaze pri bolnikih z AP. Izračunali smo, da ima metoda za določanje aktivnosti α -amilaze pri bolnikih z AP 24 % občutljivost, kar je slabo. To pomeni, da metoda v 76 % daje lažno negativne rezultate.

Specifičnost metode za določanje aktivnosti α -amilaze pri kontrolni skupini je bila 96 %, kar pomeni, da metoda le v 4 % daje lažno pozitivne rezultate.

Občutljivost metode za določanje aktivnosti lipaze pri bolnikih z AP je bila 65 %. Rezultat nam pove, da je aktivnost lipaze pri 65 % obolelih za AP zvišana, v ostalih primerih pa normalna. To pomeni, da je 35 % rezultatov lažno negativnih.

Specifičnost metode za določanje aktivnosti lipaze pri kontrolni skupini je bila 92 %, kar pomeni, da v 8 % metoda daje lažno pozitivne rezultate.

Pri bolnikih s KP smo prav tako ugotavljali, kakšna je občutljivost in specifičnost metode za določanje aktivnosti α -amilaze in lipaze. Za izračune specifičnosti smo uporabili isto kontrolno skupino, zato so bili rezultati enaki kot pri AP.

Občutljivost metode za določanje aktivnosti α -amilaze pri bolnikih s KP je bila 28 %, kar je slabo. To pomeni, da je kar 72 % rezultatov lažno negativnih.

Občutljivost metode za določanje aktivnosti lipaze pri bolnikih s KP je bila 39 %. Rezultat nam pove, da je 61 % lažno negativnih rezultatov.

Iz izračunov občutljivosti metode za določanje aktivnosti α -amilaze, lahko sklepamo, da ima ta metoda slabo občutljivost pri AP in KP. Iz izračunov občutljivosti metode za določanje aktivnosti lipaze pa lahko sklepamo, da ima ta metoda boljšo občutljivost kot pa metoda za določanje aktivnosti α -amilaze pri AP in KP. Občutljivost metode za določanje aktivnosti lipaze je srednje dobra in iz tega lahko zaključimo, da je aktivnost lipaze boljši pokazatelj AP in KP kot pa aktivnost α -amilaze.

Specifičnost metode za določanje aktivnosti amilaze in lipaze pri kontrolni skupini je dobra.

Ker ima test visoko specifičnost bi bil dober kot diagnostični test.

5 SKLEP

Na podlagi dobljenih rezultatov smo lahko sklepali:

- da so bili vzorci pri večini pacientov z AP in KP odvzeti (po 3 dneh in ne prej), ko se je aktivnost amilaze že normalizirala; povišana je bila le še aktivnost lipaze, ki ostaja zvišana dlje kot aktivnost amilaze;
- da so bile vrednosti aktivnosti lipaze pri bolnikih z AP bolj povišane kot pri bolnikih s KP; pri KP je bila aktivnost lipaze rahlo povišana, kar je značilno za KP;
- da se pri obeh skupinah pacientov rezultati aktivnosti amilaze in lipaze ujemajo med seboj;
- da so rezultati aktivnosti amilaze in lipaze za kontrolno skupino v mejah referenčnih vrednosti;
- da med bolnimi in zdravimi preiskovanci lahko dokažemo statistično signifikantno razliko glede na rezultate ujemanja aktivnosti amilaze in lipaze med seboj;
- da ima metoda določanja aktivnosti amilaze slabšo občutljivost kot metoda določanja aktivnosti lipaze; specifičnost je bila pri obeh metodah, tako za določanje amilaze kot lipaze dobra; če bi upoštevali izračune glede na občutljivosti in specifičnosti, potem je aktivnost lipaze boljši pokazatelj AP in KP kot aktivnost amilaze;
- da med aktivnostjo obeh encimov in dihalnim testom pri obeh skupinah pacientov ni statistično pomembne korelacije.

6 LITERATURA

1. Košnik M, Mravlje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M: Interna medicina, Littera picta: Slovensko medicinsko društvo, Ljubljana, 2011: 615-628.
2. Krajnc I, Pečovnik Balon B: Interna medicina za Visoko zdravstveno šolo, Maribor: Visoka zdravstvena šola, 2000: 402-406.
3. Štiblar Martinčič D, Cör A, Cvetko E, Marš T, Legan M: Anatomija, histologija, fiziologija, 2. izdaja, Medicinska fakulteta, Ljubljana, 2008: 92, 132-133, 138, 143.
4. Matko I: Akutni pankreatitis Acute pancreatitis, MED RAZGL, 1996; 35: 221-241. Dostopno na: http://www.medrazgl.si/arhiv/mr96_2_04.pdf, avgust 2014.
5. Kozjek F, Križman I: Bolezni prebavil, Slovenska farmacevtska družba, Ljubljana, 1990: 71-116.
6. Babič M, Colarič D, Eder K, Elbl T, Pompolšek T, Murko A, Špilak M: Izzivi družinske medicine, Učno gradivo, Zbornik seminarjev študentov Medicinske Fakultete Univerze v Mariboru 4.letnik, Ljubljana: Zavod za razvoj družinske medicine, 2007: (Družinska medicina; 2007, 5. Supplement; 6); 375-385. Dostopno na: http://www.drmed.org/javne_datoteke/novice/datoteke/19671-Zbornik_IZZIVI_DRUŽINSKE_MEDICINE_2007-08-pdf, marec 2013.
7. Barovič V: Patologija, patološka fiziologija in osnove interne medicine, 1. izdaja, DZS, Ljubljana, 1999: 191.
8. Koželj M, Mervic M: Akutni pankreatitis-klinična pot, Klinični oddelek za gastroenterologijo, SPS Interna klinika, Univerzitetni Klinični Center Ljubljana: 1-11. Dostopno na: <http://www.4.kclj.si/admin/organigram/000195-0001e5.pdf>, marec 2013.
9. Chronic pancreatitis: MedlinePlus Medical Encyclopedia. Dostopno na: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/artlice/000221.htm>, avgust 2014.
10. Jadrešin O, Hojsak I: Akutni i kronični pankreatitis, Paediatr Croat, 2006; 50 (Sulp1): 60-67. Dostopno na: <http://hpps.kbsplit.hr/hpps-2006/pdf/dok6.pdf>, avgust 2014.
11. Kos T, Pivk B: Klinična kemija in biokemija II, Učbenik za predmet medicinske biokemije v 4. letniku programa tehnik lab. Biomedicine, 1 izdaja, Mohorjeva družba, Celovec, 2009: 41-59.
12. Plevnik Žnidarec M: Kemija in biokemija, Študijsko gradivo za interno uporabo, 1. tiskana izdaja, Šentjur: Šolski center, Višja strokovna šola, 2006: 84-88.
13. Ilić S: Tumačenje biohemijskih analiza. Dostopno na: <http://www.stetoskop.info/Tumacenje-biohemijskih-analiza-krvi-Povisene-i-smanjene-vrednosti-kreatinina-amilaze-bilirubina-transaminaza-CRP-GGT-holesterola-triglicerida-3813-s3-content.htm>, avgust 2014.
14. Osredkar J: Razširjen strokovni kolegij za laboratorijsko diagnostiko, Št.: RSK-25/2003. Dostopno na: <http://www.szkk.si/P/PDF/katalitice%20aktivnosti%20encimov.pdf>, avgust 2014.
15. Osredkar J: Izbrana poglavja iz klinične kemije, Učno gradivo za študente farmacije, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2008: 299-301.
16. Osredkar J, Marc J: Laboratorijska medicina I, Učbenik za študente medicine, farmacije in laboratorijske biomedicine, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2012: 134-137.
17. Jesenovec N: Izbrani postopci analiza u kliničko-biokemijskih laboratorijima II, Društvo medinskih biokemičara Jugoslavije: 211-214.

18. Lipaza-Wikipedija, Prosta enciklopedija. Dostopno na: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Lipaza>, avgust 2014.
19. Markovič S: Bolezni trebušne slinavke, Interna medicina, Littera picta, Ljubljana, 2005: 562.
20. Osredkar J: Raziskava: Diagnostika eksokrine funkcije pankreasa z uporabo dihalnega testa, UKC Ljubljana, Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, Ljubljana, 2010: 1-11.
21. ^{13/12}CO₂ breath test instrument FANci2, Fischer ANalysen Instrumente GmbH. Dostopno na: http://www.fan-gmbh.de/fanci2_en.htm, avgust 2014.
22. Stellard F, Ahmad Rajabi: Protocols- ¹³C Breath Test. Campro Scientific GmbH Germany, The Netherlands: 3, 4. Dostopno na: <http://www.campro.eu/PDF/Brochures/Flyer-Breath-Test-Protocol/web-protocols-13C-breath-test-liver-okt2011-en.pdf>, avgust 2014.
23. Černe D: Predavanja klinična biokemija, 2. letnik, Encimi, Visokošolski strokovni študij laboratorijske biomedicine, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana: 9.
24. Klaus Wetzel, Heins Fischer: ¹³C- Breath Tests for Investigating Exocrine Pancreatic Function and Diagnosing Pancreatic Diseases, Fischer ANalysen Instrumente GmbH (FAN), Leipzig: 4-7, 18, 19, 25, 30, 32, 34. Dostopno na: <http://www.fan-gmbh.de/docs/13c-breathtests.pdf>, avgust 2014.
25. Laposata M, Parl F: Laboratory Medicine- The Diagnosis of Disease in the Clinical Laboratory, Pancreatic Disorders, The McGraw-Hill Companies, 2010: 348, 349, 350.
26. Navodila proizvajalca iz originalnega pakiranja reagentov α -amilaze (AMYL), Roche/Hitachi, V 12 English, 2006-11: 1-4.
27. Navodila proizvajalca iz originalnega pakiranja reagentov lipaze (LIP), Roche/Hitachi, V 16 English, 2011-02: 1-4.
28. SOP-Amy, SOE Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, UKC Ljubljana: 1, 2.
29. SOP-Lipaza, SOE Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, UKC Ljubljana: 1, 2.
30. SOP-Delo na analizatorju Roche/Hitachi 917, SOE Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, UKC Ljubljana: 1-3.
31. Katal- Wikipedija, Prosta enciklopedija. Dostopno na: <http://www.sl.wikipedia.org/wiki/Katal>, avgust 2014.
32. Devetak A: Biostatistika diagnostičnih testov. Dostopno na: http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/homedirs/12/UPLB-Biomedicinsk_informatika/5._vaja_-_predstavitev.pdf, avgust 2014.
33. Pearsonov koeficient korelacije. Dostopno na: <http://www.benstat.si/blog/pearsonov-koeficient-korelacije>, avgust 2014.
34. Suhadolc K, Sešek Briški A, Osredkar J: Teoretične osnove ¹³C dihalnih testov, Farmacevtski vestnik, številka 3, 2013; 64: 229, 230, 231. Dostopno na: http://www.sfd.si/modules/catalog/products/prodfile/fv20133_za_web.pdf, avgust 2014.