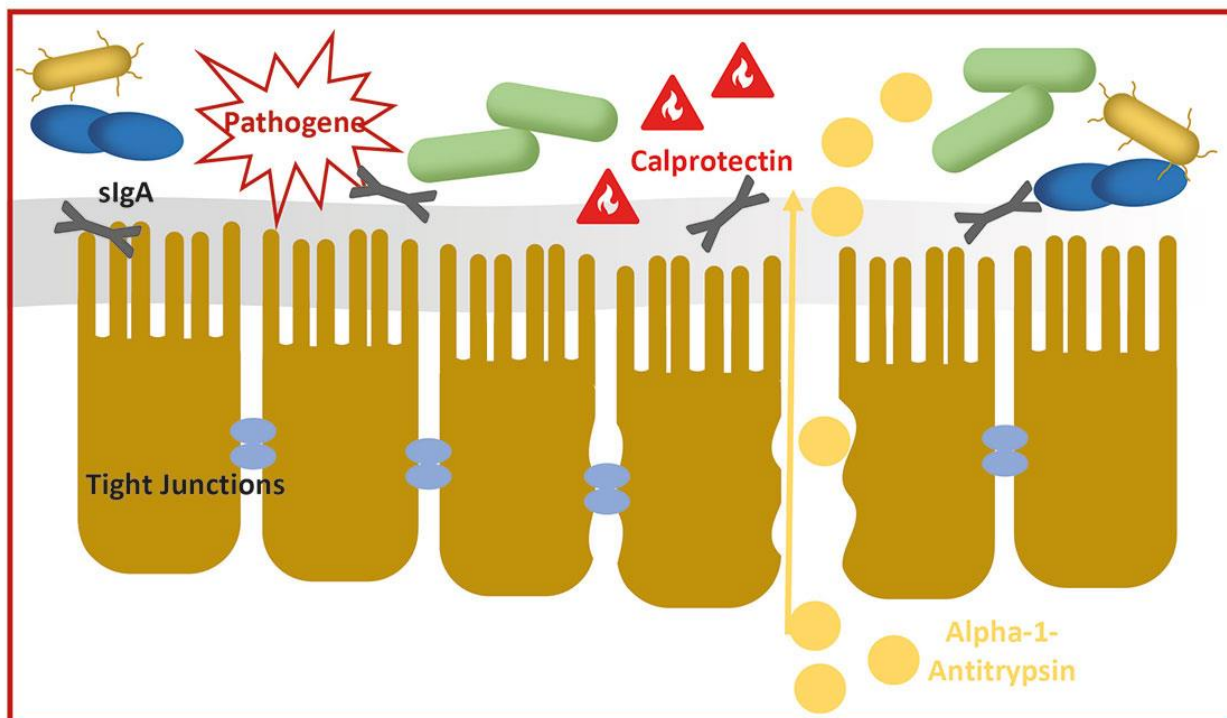


Fekálne biomarkery pri chronických enteropatiách psov a mačiek



Zdroj obrázka: Laboklin

Fekálne biomarkery predstavujú cennú, neinvazívnu možnosť získania informácií o patofyziologických procesoch v gastrointestinálnom trakte. Umožňujú rozlíšiť zápalové a nezápalové príčiny chronických enteropatií, poskytujú informácie o strate bielkovín alebo pomáhajú pri sledovaní priebehu ochorenia a plánovaní liečby. Nižšie uvádzame najdôležitejšie fekálne biomarkery, ktoré sú v súčasnosti k dispozícii vo veterinárnej medicíne.

1. α 1-antitrypsín

α 1-antitrypsín (α 1-AT) je proteín zo skupiny inhibítorov serínových proteáz (serpíny). Syntetizuje sa primárne v pečeni a cirkuluje v relatívne stabilnej koncentrácii v krvnej plazme. Jeho fyziologická funkcia spočíva v inhibícii proteolytických enzýmov – najmä elastázy

neutrofilov – s cieľom zabrániť poškodeniu tkanív v dôsledku nadmerných zápalových reakcií. Špeciálny význam však α 1-AT nadobúda vďaka svojmu využitiu ako **diagnostický marker pri enteropatiách so stratou proteínov (PLE)**. Na rozdiel od mnohých iných proteínov je α 1-AT vo veľkej miere odolný voči enzymatickému rozkladu v gastrointestinálnom trakte. Ak sa v dôsledku narušenia črevnej bariéry – napr. pri zápale alebo vredoch – dostane z plazmy do črevného lúmenu, zostáva v stolici nezmenený a je možné ho dokázať. To robí α 1-AT ideálnym fekálnym markerom pre stratu plazmatických bielkovín cez črevo. Jeho prítomnosť v truse teda poukazuje na narušenú funkciu črevnej bariéry a je považovaná za indikátor intestinálnej straty bielkovín.

Indikácie

U psov je prítomnosť fekálneho α 1-AT dobre preskúmaná, najmä ako vhodného včasného markera rozvíjajúcej sa PLE u plemien s predispozíciou na túto chorobu (napr. soft coated wheaten teriér). Výsledky naznačujú, že marker indikuje zodpovedajúcu poruchu črevnej bariéry už v skorom štádiu, ešte predtým, ako sa objavia klinické príznaky alebo hypoalbuminémia viditeľná v krvi. Ďalšou oblasťou použitia môže byť objasnenie hypoproteinémie/hypoalbuminémie. PLE nie je vždy sprevádzaná hnačkou, takže fekálny α 1-AT môže byť užitočný pri vysvetľovaní príčiny príslušnej zmeny v krvi. U pacientov s chronickou enteropatiou zvýšená koncentrácia α 1-AT v truse ukazuje zodpovedajúcu závažnosť ochorenia.

Okrem toho sa tento parameter môže použiť na monitorovanie liečby: klesajúce hodnoty počas liečby svedčia o zlepšení funkcie črevnej bariéry.

Čo je potrebné vziať do úvahy

Meranie sa zvyčajne vykonáva pomocou ELISA. Zachytávajú sa už aj malé množstvá, ktoré unikajú cez poškodenú sliznicu. Je však známe, že dochádza k denným výkyvom, ako aj k nerovnomernému rozloženiu v rámci jednej vzorky trusu. To môže za určitých okolností viesť k tomu, že napriek prítomnosti príslušného ochorenia vyšetrenie vykáže nízke alebo nemerateľné koncentrácie. Testovanie troch po sebe idúcich vzoriek stolice zvyšuje diagnostickú výpovednú hodnotu.

Hodnotenie fekálneho α 1-AT by sa malo vždy vykonávať v klinickom kontexte. Referenčné rozpätie je široké, možné prekrývania so zdravými kontrolnými zvieratami a denné výkyvy, ako aj nerovnomerné rozloženie v stolici môžu spôsobiť falošne pozitívne aj falošne negatívne výsledky. Okrem toho je potrebné poznamenať, že koncentrácie sú logicky zvýšené, ak dochádza ku gastrointestinálnemu krvácaniu alebo zvýšenej produkcii hlienu v čreve.

α 1-AT neumožňuje vyvodiť žiadne závery o etiológii PLE – ide o kvantitatívny marker straty

bielkovín, ktorý nie je špecifický pre zápal alebo neopláziu.

α 1-antitrypsín u mačiek

Aj v prípade mačiek existujú údaje, ktoré ukazujú, že koncentrácia môže byť pri chronických enteropatiách výrazne zvýšená. Interpretácia musí prebiehať v klinickom kontexte. Celkovo sa zdá, že u mačiek je chronická enteropatia častejšie spojená so stratou bielkovín črevom ako u psov. Definícia PLE preto nie je u tohto druhu úplne jednoduchá.

2. Kalprotektín

Kalprotektín je proteín viažuci vápnik z rodiny proteínov S100, ktorý sa vyskytuje predovšetkým v neutrofilných granulocytoch a pri zápalových procesoch sa uvoľňuje vo väčšom množstve.

V prípade gastrointestinálnych zápalov sa kalprotektín uvoľňuje cez črevnú sliznicu do črevného lúmenu, potom je možné ho zistiť v truse. Jeho stanovenie v truse umožňuje neinvazívne hodnotenie zápalovej aktivity v gastrointestinálnom trakte – ako v humánnej, tak čoraz viac aj vo veterinárnej medicíne.

Indikácie

U psov sa fekálny kalprotektín používa ako marker chronických zápalových ochorení čriev. Štúdie ukazujú, že zvýšené koncentrácie korelujú so závažnosťou histologických zmien a s indexom klinickej aktivity (CCECAI). Môže byť užitočný pri rozlišovaní medzi zápalovou a nezápalovou hnačkou, pri hodnotení aktivity ochorenia a pri monitorovaní liečby.

Význam kalprotektínu spočíva v jeho schopnosti naznačiť závažnosť chronickej enteropatie. Štúdie ukázali, že psy s vyšším CCECAI (napr. ≥ 12) majú významne zvýšené hladiny. Tento parameter môže poskytnúť informácie o potrebe imunosupresívnej liečby a umožniť prognostické vyhlásenia. Čím vyššia je koncentrácia kalprotektínu v truse, tým je pravdepodobnejšie, že pacient bude potrebovať imunosupresívnu liečbu. V priebežnom hodnotení môže neúplný pokles znamenať neúplnú remisiu. Opätovný

nárast je možný už pred klinicky viditeľným zhoršením.

Čo je potrebné vziať do úvahy

Ako pri všetkých biomarkeroch, platí, že kalprotektín nie je špecifický pre dané ochorenie. Ukazuje iba prítomnosť a rozsah zápalu. Môže byť zvýšený aj pri bakteriálnych infekciách, parazitózach alebo nádorových ochoreniach. Interpretácia by sa preto mala vždy robiť v klinickom kontexte a dopĺňať ďalšími diagnostickými vyšetreniami (napr. zobrazovacími vyšetreniami, endoskopiou, histológiou). Koncentrácie kalprotektínu v normálnom rozmedzí neznamujú, že nie je prítomná enteropatia. U psov sa to môže stať a vysvetľuje sa to tým, že u tohto druhu sa menej často vyskytuje neutrofilná a častejšie lymfoplazmocytná zápalová reakcia. Okrem toho sa zdá, že mnohé enteropatie u psov reagujú na krmivo. U týchto pacientov sa neočakáva silná neutrofilná zápalová reakcia.

Kalprotektín u mačiek

Kalprotektín preukázal sľubné výsledky aj u mačiek. Používa sa, okrem iného, ako podporný marker pri chronickej hnačke. Obzvlášť relevantné sú štúdie zamerané na rozlíšenie medzi zápalovými a neoplastickými procesmi (napr. nízko malígne lymfómy). Fekálny kalprotektín môže byť pri lymfóme výrazne vyšší. Doposiaľ však nebolo jednoznačne preukázané, že je možné rozlíšenie.

3. Zonulín

Riadi priepustnosť „tight junctions“ – bunkových spojení, ktoré pevne spájajú črevné epitelové bunky, a tým zabraňujú prenikaniu nežiaducich látok. Zvýšené uvoľňovanie zonulínu vedie k uvoľneniu týchto bunkových spojení, a tým k zvýšenej priepustnosti črevnej sliznice – stavu známemu ako „leaky gut“ (deravé črevo). Za fyziologických podmienok zonulín umožňuje dočasné otvorenie črevnej bariéry, napríklad pre imunitný dohľad alebo transportné procesy. Táto regulácia je jemne vyladená a zvyčajne reverzibilná. Patologické stavy vznikajú, keď je toto otvorenie pretrvávajúce alebo nadmerné, čo umožňuje okrem iného prechod bakteriálnych

zložiek, toxínov alebo neúplne strávených bielkovín potravy do tkaniva.

Indikácie

Zonulín bol identifikovaný ako potenciálny marker integrity črevnej bariéry. Zvýšené hladiny zonulínu v truse a v sére boli popísané najmä u psov s chronickou enteropatiou, potravinovými alergiami alebo zápalovým ochorením čriev. Štúdie ukazujú, že dysregulovaná expresia zonulínu je spojená so zvýšenou permeabilitou čriev – t. j. s narušeným bariérovým mechanizmom. Stanovenie hladiny zonulínu preto poskytuje najmä neinvazívny pohľad na funkčnosť črevnej sliznice. Napriek tomu, že klinické údaje u malých zvierat sú v súčasnosti ešte obmedzené, meranie hladiny zonulínu otvára nové diagnostické a terapeutické perspektívy v komplexnom pohľade na gastrointestinálne ochorenia.

Čo je potrebné vziať do úvahy

Zonulín nie je marker špecifický pre ochorenie. Rovnako ako pri mnohých novších biomarkeroch, aj pre zonulín platí to isté: výsledky sa musia interpretovať v celkovom klinickom kontexte. Zvýšené hladiny samy o sebe neumožňujú stanoviť diagnózu, ale skôr poukazujú na dysfunkciu funkčnej bariéry. Koncentrácie môžu ovplyvniť faktory ako stres, lieky, vek alebo potrava.

Zonulín u mačiek

Počiatkové pilotné štúdie u mačiek naznačujú, že tento proteín môže zohrávať úlohu aj pri chronických enteropatiách mačiek (napr. lymfoplazmocytná enteritída alebo nízko malígne lymfómy).

4. Fekálny sekretorický imunoglobulín A (sIgA)

Imunoglobulín A (IgA) je ústredným prvkom slizničného imunitného systému. Je produkovaný vo forme **sekretorického IgA (sIgA)** plazmatickými bunkami v lamina propria čreva a aktívne transportovaný cez epitel do črevného lúmenu. Tam vytvára prvú ochrannú bariéru proti patogénnym mikroorganizmom bez toho, aby spúšťal zápalové reakcie. sIgA tak pôsobí ako

„strážca brány“, ktorý chráni sliznicu pred bakteriálnou adhéziou, pôsobením toxínov a inváziou. Sekretorický IgA sa viaže na povrchové antigény baktérií, vírusov alebo toxínov a neutralizuje ich skôr, ako prídu do kontaktu s epiteliálnymi bunkami. Na rozdiel od IgG alebo IgM však IgA neaktivuje komplementový systém, a preto nemá zápalový účinok. To je nevyhnutné pre imunologickú toleranciu v čreve, kde sú neustále prítomné početné neškodné antigény (napr. zložky potravy, komenzály).

Indikácie

Znížené koncentrácie v truse môžu naznačovať funkčnú imunodeficienciu črevnej sliznice. Znížená produkcia sIgA bola popísaná najmä u nemeckých ovčiakov s chronickou enteropatiou.

Čo je potrebné vziať do úvahy

sIgA sa považuje za ukazovateľ mukóznej imunitnej kompetencie v čreve, hoci jeho interpretácia musí byť opatrná – môže ho ovplyvniť vek, stres, potrava a dokonca aj manipulácia so vzorkami. Stanovenie by sa malo vykonávať z čo najčerstvejších vzoriek trusu.

sIgA u mačiek

Údaje o sIgA v truse u mačiek sú v súčasnosti obmedzené. Počiatočné štúdie však ukazujú, že znížené koncentrácie sIgA v truse možno pozorovať pri chronických črevných ochoreniach, ako je enteritída alebo črevný lymfóm.

5. Psia pankreatická elastáza 1

Elastáza je proteolytický enzým, ktorý sa tvorí v exokrinnom pankrease a spolu s pankreatickou šťavou sa vylučuje do tenkého čreva. Jeho hlavnou funkciou je rozklad elastínu, štruktúrneho proteínu v spojivovom tkanive. V diagnostike však nehrá úlohu enzýmová aktivita, ale skôr detekcia stabilných množstiev elastázy v truse, čo umožňuje vyvodiť závery o exokrinnnej funkcii pankreasu. Na rozdiel od mnohých iných pankreatických enzýmov je elastáza do značnej miery odolná voči enzymatickej degradácii, žlčovým kyselinám a bakteriálnym vplyvom v črevnom lúмене. Vylučuje sa nezmenená trusom a tam ju možno

detegovať pomocou imunologických testov (ELISA). Vďaka tomu je **neinvazívnym markerom exokrinnnej funkcie pankreasu**. U psov je meranie **pankreatickej elastázy 1** užitočným skriningovým nástrojom, najmä u pacientov s nešpecifickými gastrointestinálnymi príznakmi. Môže sa použiť ako doplnok alebo predstupeň k stanoveniu špecifickej trypsinu podobnej imunoreaktivity (cTLI). Normálne hladiny elastázy zvyčajne vylučujú klinicky relevantnú EPI. Významne znížené hladiny môžu poukazovať na exokrinnú dysfunkciu, ale musia byť potvrdené sérovou cTLI. Nízke koncentrácie elastázy v truse sa môžu vyskytnúť napríklad v dôsledku riediaceho účinku hnačky, a preto samy o sebe nie sú presvedčivým dôkazom EPI. Nízke koncentrácie elastázy sa môžu vyskytnúť aj u zdravých psov.

Koncentrácia cTLI v referenčnom rozmedzí vylučuje prítomnosť EPI, aj keď je fekálna elastáza veľmi nízka. Len vo veľmi zriedkavých prípadoch sa EPI spája s nízkou fekálnou elastázou, ale normálnou (na spodnej hranici) koncentráciou cTLI: uzáver pankreatického vývodu (pankreas je funkčný, ale enzýmy sa nedostávajú do čreva), odber krvi na cTLI sa nevykonával nalačno alebo sa robil počas záchvatu pankreatitídy (zvýšené enzýmy sa uvoľnili do krvi).

6. (Celkové) žlčové kyseliny

Žlčové kyseliny sa syntetizujú v pečeni a vylučujú do tenkého čreva ako súčasť trávenia. Približne 95 % z nich sa reabsorbuje v ileu. Porucha tejto reabsorpcie – napr. v dôsledku chronického zápalu – vedie k zvýšeným hladinám primárnych žlčových kyselín v hrubom čreve, čo môže vyvolať sekrečnú hnačku. Dysbióza so zníženou premenou na sekundárne žlčové kyseliny baktériou *Clostridium hiranonis* (premenovanou na *Peptacetobacter hiranonis*) môže tiež ovplyvniť tieto procesy.

7. Vyšetrenia dysbiózy

Črevná mikrobiota zohráva kľúčovú úlohu v patogenéze chronických enteropatií. Testy dysbiózy využívajú metódy založené na PCR na kvantifikáciu relevantných bakteriálnych markerov (napr. *Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Clostridium hiranonis*) a na posúdenie ich odchýlok od

fyziológického stavu. Zmena skóre naznačuje narušenú mikrobiálnu homeostázu a môže byť prognosticky relevantná.

Záver

V posledných rokoch sa hodnotenie fekálnych biomarkerov čoraz viac uplatňuje v diagnostike a monitorovaní liečby chronických enteropatií. Kým α 1-antitrypsín a kalprotektín môžu poskytovať

priame informácie o strate bielkovín a zápale, žľčové kyseliny poskytujú doplňujúce informácie o funkčnej a bakteriálnej integrite čreva. Ich ciele použítie môže poskytnúť solidný základ pre rozhodnutia o liečbe, kontrolu priebehu a odhad prognózy. Dôležitá zostáva interpretácia v klinickom kontexte a v prípade potreby kombinácia viacerých parametrov na zvýšenie diagnostickej výpovednej hodnoty. Prehľad fekálnych biomarkerov nájdete v tabuľke 1.

Biomarker	Parameter	Hlavná funkcia	Použitie v praxi
α1-antitrypsín	strata bielkovín	bariérová funkcia / PLE	skorá diagnostika, plán terapie
Kalprotektín	zápal	hodnotenie závažnosti	rozhodnutia o terapii a prognóze
SIgA	slizničná imunitná odpoveď	imunitná funkcia sliznice	v súčasnosti obmedzený klinický význam
Žľčové kyseliny	malabsorpcia	hnačka vyvolaná žľčovými kyselinami	dysbióza, sekretorická hnačka
Psia pankreatická elastáza 1	funkcia exokrinného pankreasu	exokrinná pankreatická insuficiencia	skrining exokrinnnej pankreatickej insuficiencie
Dysbióza - skóre	mikrobiálne zloženie	rovnováha mikrobiómu	optimalizácia terapie, prognóza

Tab. 1: Prehľad fekálnych biomarkerov

Dr. Jennifer von Luckner

Ďalšia literatúra

ergens AE, Heilmann RM. Canine chronic enteropathy—Current state- of-the-art and emerging concepts. *Front Vet Sci.* 2022;9:923013.

Oliveira IM, Ribeiro RR, Cysneiros MEC, Torres LB, Moraes VR, Ferreira LR, Silva WPR, Souza MR, Xavier RAL, Costa PRS, Martins DB, Borges NC. Intestinal biomarkers and their importance in canine enteropathies. *Vet Med Int.* 2024;2024:7409482.

Sacoor C, Barros LM, Montezinho L. What are the potential biomarkers that should be considered in diagnosing and managing canine chronic inflammatory enteropathies? *Open Vet J.* 2020;10:412–30.