

## **IL LABORATORIO NELLA DIAGNOSTICA DELLA PANCREATITE**

**Stefania Rondinella**

*U.O. Lungodegenza - Azienda Ospedaliera Arcispedale Santa Maria Nuova - Reggio Emilia*

La diagnosi di pancreatite è principalmente una diagnosi clinica che si avvale delle indagini radiologiche per la conferma.

La pancreatite acuta è caratterizzata da uno stato di flogosi (infiammazione) acuta del pancreas e dei tessuti peripancreatici e le lesioni possono essere un edema interstiziale (pancreatite edematosa), oppure una necrosi parenchimale (pancreatite necrotico emorragica). Lo stato infiammatorio provoca la necrosi del tessuto pancreatico dovuto alla digestione da parte degli enzimi prodotti dal pancreas stesso. L'aumento della quota di enzimi pancreatici che si riversa nel sangue pertanto è indice evidente di danno cellulare acuto.

Con pancreatite cronica - o "pancreatopatia cronica" - si indicano, invece, tutte le affezioni del pancreas a carattere cronico e fibrosante che producono un danno permanente o disfunzione dell'organo. Pertanto il ruolo del laboratorio nella diagnostica della pancreatite cronica non è quello di ricercare il danno cellulare acuto, quanto la progressiva insufficienza ghiandolare.

### **PANCREATITE ACUTA**

Nella pancreatite acuta sono principalmente due gli enzimi rilasciati dalle cellule acinari ed immessi in circolo nel sangue in quantità aumentata: l'amilasi e la lipasi.

#### **Amilasi**

Le amilasi del siero derivano per il 40-45% dal pancreas, per una quota maggiore dalle ghiandole salivari (circa 60%) e per una piccola quota da altri organi quali intestino tenue e tube di falloppio.

Il dosaggio delle amilasi plasmatiche è un esame sensibile ma poco specifico (sensibilità 75-92%, specificità 20-60%) nella diagnosi di pancreatite acuta. Infatti altre patologie acute addominali possono associarsi ad un moderato rialzo delle amilasi seriche, ponendo seri problemi di diagnosi differenziale (Tab 1).

Un aumento dell'amilasi superiore a tre-cinque volte i valori di norma supporta la diagnosi di pancreatite acuta (Tab 2).

Nella pancreatite acuta il valore dell'amilasi aumenta nelle prime 12-24 ore dall'inizio della sintomatologia, permane elevato per 3-4 giorni e rientra nei limiti di norma in 4-7 giorni. La persistenza di valori elevati deve indurre a pensare allo sviluppo di complicanze quali ascesso pancreatico, pseudocisti, ascite.

**TAB 1:** Cause pancreatiche ed extra-pancreatiche dell'aumento delle amilasi.

<b>Cause Pancreatiche</b>	<b>Cause Extrapancreatiche</b>	
Pancreatite acuta	parotite epidemica litiasi, parotide e ghiandole salivari	carcinoma dell'esofago, del polmone e dell'ovaio
Pancreatite cronica riacutizzata	Macroamilasemia *	alcolismo
Complicanze della pancreatite (ascite, ascesso, pseudocisti)	insufficienza renale, trapianto di rene	rottura di aneurisma dell'aorta, post-operatorio in chirurgia addominale.
Carcinoma del pancreas	litiasi del coledoco, colecistite, epatite, cirrosi	chetoacidosi diabetica
Litiasi dei dotti pancreatici	ulcera gastro-duodenale perforata	gravidanza, complicanze di gravidanza extrauterina
Trauma pancreatico	occlusione intestinale, perforazione intestinale, infarto intestinale	assunzione di corticosteroidi, assunzione di morfina e codeina
	interventi maxillo-facciali	Ustioni

\* in alcolismo, sindrome da malassorbimento o altre turbe digestive; è dovuta al legame dell'amilasi con proteine ad elevato peso molecolare che non permettono la filtrazione, motivo per cui non è presente amilasuria

**TAB 2:** Diagnosi differenziale di aumento delle amilasi

<b>Valori moderatamente elevati (&gt;3 volte la norma)</b>	<b>Valori particolarmente elevati (&gt;5 volte la norma)</b>
carcinoma del pancreas	pancreatite acuta
parotite ed altri processi flogistici delle ghiandole salivari	pseudocisti pancreatiche
ulcera peptica duodenale perforata	assunzione di morfina

Nella pratica clinica però si riconoscono svariate eccezioni:

- Innanzitutto va segnalato che l'attività dell'amilasi rimane nei range di normalità alla presentazione del paziente nel 19-20% dei casi.
- Una modesta iperamilasemia si riscontra nel 9-39% dei soggetti etilisti, in assenza di sintomi evocatori di pancreatite acuta. Questo aumento è però in gran parte a carico delle isoamilasi salivari. D'altro canto è anche vero che talora soggetti etilisti che presentino episodi acuti di pancreatite possono mostrare valori normali di amilasemia, probabilmente a causa dell'insufficienza esocrina legata alla pancreatite cronica sottostante.
- Come per le transaminasi nell'epatite fulminante, sono descritti casi di pancreatite acuta con necrosi massiva senza alcun rialzo delle amilasi plasmatiche.
- Valori normali di amilasi possono essere riscontrati in pazienti che giungano all'osservazione due o più giorni dopo l'esordio dei sintomi. Come già detto, infatti, i livelli decrescono rapidamente, specie nelle forme lievi, cosicché buona parte dei pazienti hanno valori normali entro 48 ore.

La determinazione delle isoamilasi-P può accrescere la specificità del test, in quanto esse si ritrovano soltanto nel tessuto pancreatico. In urgenza, tuttavia, il loro impiego è poco diffuso, anche perché non permette di differenziare la pancreatite acuta dalle altre patologie addominali che si associano ad iperamilasemia.

Una elevata concentrazione di amilasi (isoamilasi-P) viene riscontrata nelle urine di pazienti affetti da pancreatite acuta, a causa della loro aumentata clearance renale. Lo stesso fenomeno non si verifica quando l'iperamilasemia è dovuta ad altre cause.

Su questa base si fonda il test del rapporto tra clearance delle amilasi e della creatinina nella diagnosi di pancreatite acuta. Nella macroamilasemia l'amilasi viene complessata o con una immunoglobulina o con altre sostanze ed il complesso che ne deriva è troppo grande per essere filtrato a livello glomerulare. In tal caso l'attività amilasica è elevata nel siero e bassa nelle urine. Ciò si traduce in un basso valore di ACR (amilasi/creatinine ratio) che esprime il rapporto tra la clearance dell'amilasi e quello della creatinina:

$$ACR = (\text{Amilasi urine} * \text{creatinina siero}) / (\text{amilasi siero} * \text{creatinina urine}) * 100$$

Tuttavia, poiché il test è inaffidabile quando la pancreatite acuta si associa ad insufficienza renale, non sembra attualmente che questo esame possa aumentare le possibilità diagnostiche.

### **Lipasi**

Come per le amilasi, anche i livelli plasmatici di lipasi si innalzano quasi costantemente nei pazienti con pancreatite acuta. Il loro decremento è più lento di quanto avvenga per le amilasi, il che è vantaggioso soprattutto nei pazienti con presentazione clinica tardiva. Le linee guida per la gestione della patologia enfatizzano questa proprietà. Inoltre le lipasi vengono prodotte esclusivamente dal pancreas, il che significa che il loro rialzo nel siero è indice assoluto di patologia pancreatica. Pertanto, il valore diagnostico delle lipasi è caratterizzato da maggiore specificità (50-99%) e sensibilità (86-100%), oltre che maggiore accuratezza rispetto alle amilasi. La lipasi non è escreta con le urine, per cui la sua clearance non è misurabile.

### **Tripsina ed elastasi**

Un elevato livello di tripsinemia è probabilmente il più accurato marker biochimico di pancreatite acuta, superato in specificità solo dal dosaggio dell'elastasi. Sfortunatamente sono entrambi test di non ampia diffusione e quindi non routinariamente applicabili.

### **Altri esami**

La conta dei **globuli bianchi (GB)** solitamente aumenta a 12000-20000/ml. Le perdite dei liquidi nel terzo spazio possono far aumentare l'**ematocrito** addirittura fino al 50-55%, indicando una grave infiammazione.

Si può verificare una **iperglicemia**, che nel caso della pancreatite acuta è per lo più transitoria, quale indice di severo danno acuto ghiandolare ed interessamento della funzione

endocrina pancreatica. Essa è dovuta al deficit di insulina, all'aumento del glucagone sierico e all'incremento dei livelli sierici di catecolamine e cortisolo indotto dallo stress.

La concentrazione sierica del **calcio** diminuisce precocemente fin dal primo giorno a causa della formazione dei "saponi" di Ca, secondaria all'eccessiva generazione di acidi grassi liberi, specialmente ad opera della lipasi pancreatica. L'ipocalcemia è inoltre dovuta ad una serie di altri fattori, tra cui l'ipoalbuminemia principalmente, l'aumentata secrezione di calcitonina per aumento del glucagone sierico, e la diminuita secrezione di paratormone.

La concentrazione della **bilirubina sierica** aumenta nel 15-25% dei pazienti, perché il pancreas edematoso comprime il dotto biliare comune.

È possibile anche trovare un valore di **ALT** > 80 , molto specifico per pancreatite biliare, ma poco sensibile. In generale, comunque, un aumento delle transaminasi e degli indici di colestasi precoce (entro le prime 24 ore) fa presupporre una pancreatite di origine biliare.

Ugualmente significato eziologico viene attribuito al riscontro di **ipertrigliceridemia**.

**VES, PCR, Fibrinogeno, alfa 1-glicoproteina acida** aumentano pressoché costantemente in corso di pancreatite acuta.

Se la leucocitosi, l'iperamilasemia e l'aumento della PCR persistono è presumibile la formazione di pseudocisti.

LDH, calcemia, ipoalbuminemia ed ematocrito > 50% sono indici di severità della malattia, così come VES elevata, leucocitosi neutrofila, ipercreatininemia.

## **PANCREATITE CRONICA**

Il ruolo della iperenzimemia nella diagnostica di pancreatite cronica è di per sé limitato, mentre un ruolo importante è svolto dai test di funzionalità ghiandolare. I livelli sierici di amilasi e lipasi sono pressoché nella norma, eccetto nelle fasi di riacutizzazione. Le iso-amilasi pancreatiche sono occasionalmente inferiori al normale nella pancreatite cronica associata a steatorrea, mentre sono in genere normali nella pancreatite cronica lieve.

Gli indici di flogosi (leucocitosi neutrofila, PCR, VES, fibrinogeno, alfa1-glicoproteina acida) rimangono inalterati.

Iperglicemia è spesso presente per l'instaurarsi di diabete insulino-dipendente, come di seguito descritto.

ALT, GGT, Fosfatasi alcalina, bilirubina sono alterati nella pancreatite litiasica e si associano ad ittero e calcolosi.

Durante la fase acuta dolorosa, gli esami ematochimici evidenziano un modesto incremento della amilasemia, della lipasemia, della tripsinemia e, frequentemente, incremento di bilirubina, gamma-GT, fosfatasi alcalina e transaminasi (espressione di colestasi extraepatica da compressione del coledoco).

Nel dubbio diagnostico con un una neoplasia pancreatica è opportuno il dosaggio del CA-19-9.

Come già anticipato, però, la diagnosi di laboratorio di pancreatite cronica si basa sulla identificazione dello stato di insufficienza ghiandolare.

## **PROVE DI FUNZIONALITA' DEL PANCREAS ESOCRINO**

Si distinguono in dirette ed indirette, intendendosi per dirette le prove che comportano la raccolta delle secrezioni pancreatiche dopo stimolazione endovenosa con secretagoghi e indirette le altre. Le prove vanno poi distinte ulteriormente in prove che richiedono l'intubazione duodenale e quelle che non la richiedono.

Va ricordato che il pancreas ha un'ampia riserva funzionale, per cui i segni del malassorbimento non si manifestano finché la secrezione di enzimi sotto stimolo non è ridotta a meno del 10% del valore normale. Si comprende quindi perché i test che si basano sulla trasformazione di un substrato ingerito hanno bassa sensibilità, mentre hanno maggiore attendibilità i test basati sulla misura degli enzimi nel succo duodenale dopo somministrazione di secretagoghi (secretina, colecistochinina), dopo assunzione di un pasto di prova o dopo perfusione duodenale con aminoacidi.

### **Test alla secretina e alla colecistochinina**

I secretagoghi possono essere infusi separatamente o molto più spesso assieme, in modo da valutare contemporaneamente la funzionalità delle cellule acinari e di quelle dei dotti.

Il metodo di somministrazione più seguito prevede l'infusione continua di secretina (GIH 0.25 CU/Kg/h) e/o di colecistochinina (CCK-octapeptide 40 ng/Kg/h). Il test richiede il posizionamento di sondino in duodeno e la aspirazione continua dei succhi gastrici che altrimenti interferirebbero con la misura del volume del succo pancreatico. Il secreto duodenale viene raccolto per 80 min e sul liquido così ottenuto si misurano: volume, concentrazione di bicarbonato, concentrazione di amilasi, tripsina e lipasi.

In una pancreatite acuta questi valori sono diminuiti del 20%. Quasi tutti i pazienti con pancreatite cronica hanno basse concentrazioni di bicarbonato (40% della media normale), circa metà ha una bassa attività amilasica e ancor meno mostrano lieve riduzione del volume totale. In una patologia ostruttiva la riduzione di tutti i valori è molto marcata e cifre ancora inferiori si hanno nella fibrosi cistica.

Il metodo consente la misura di difetti iniziali non altrimenti misurabili. I limiti principali di questa metodica consistono nel suo costo elevato e nella bassa tollerabilità da parte del paziente, e per tali motivi essa è sempre meno utilizzata. Ciò nonostante la sua accuratezza è decisamente elevata, aggirandosi intorno al 95-97% e permane tale anche nelle forme lievi. Ciò fa sì che tale indagine sia elettiva nella diagnosi delle pancreatopatie croniche iniziali, laddove la diagnostica strumentale è difficilmente in grado di evidenziare la condizione patologica. Sono possibili falsi positivi (per il coinvolgimento del pancreas in numerose patologie dell'apparato digerente) e falsi negativi (in virtù della riserva funzionale del pancreas).

### **Test del pasto di Lundh**

Il paziente ingerisce una miscela liquida (300 ml) a base di latte in polvere, olio vegetale e destrosio per un totale di 18 g lipidi, 15 g proteine, 45 g carboidrati. Dopo il pasto si ottiene con sondino, a intervalli, il succo duodenale e si misura la concentrazione di tripsina. Il test evidenzia deficit funzionali di entità moderata o grave. Non è utilizzabile in

caso di concomitanti patologie della mucosa intestinale (sprue) o in caso di anomalie strutturali dipendenti da pregressi interventi (vagotomia, Billroth II, gastrectomia subtotale). Oggi è pressoché abbandonato.

### **Misura dei grassi fecali**

Il test consiste nella misura dei grassi fecali dopo assunzione per tre giorni di una dieta contenente 100 g di lipidi. Normalmente compare nelle feci meno del 7% dei grassi ingeriti. Il test è patologico in caso di insufficienza pancreatica grave ed è oberato da problemi di compliance. Grazie alle nuove tecniche spettrofotometriche è possibile ottenere rapidamente anche su un piccolo campione raccolto in una singola evacuazione una buona valutazione non solo dei grassi fecali, ma anche di proteine, amidi e zuccheri semplici. Va anche ricordato che la semplice ricerca microscopica di grassi neutri nelle feci (colorazione Sudan III) dà le stesse informazioni dei grassi fecali.

### **Test del NTB-PABA**

È il test non invasivo eseguito più di frequente per la valutazione della funzionalità del pancreas esocrino. Il Paziente assume per os il peptide sintetico acido N-benzoil-L-tirosil-p-aminobenzoico. Nel duodeno la chimotripsina pancreatica scinde i due composti ed il PABA generato è assorbito, coniugato a livello epatico ed è escreto nelle urine ove può essere misurato. La eliminazione con le urine in 6 ore di più del 50% del PABA ingerito è indice di una normale funzionalità pancreatica. Il test è positivo in caso di insufficienza pancreatica grave. Ha sensibilità 80-100% e specificità 90-95%. Precedenti interventi chirurgici sullo stomaco, affezioni dell'intestino tenue, epatopatie, insufficienza renale, l'uso di alcuni farmaci (acetaminofene, fenacetina, tiazidici, sulfamidici, procainamide, cloramfenicolo, lidocaina, benzocaina, creme solari contenenti PABA) o l'assunzione di alcuni cibi (prugne, mirtilli) possono interferire con il test.

### **Chimotripsina e tripsina nelle feci**

La misurazione della chimotripsina e della tripsina nelle feci è stata usata in passato come test indiretto di insufficienza del pancreas esocrino, specie per individuare l'insufficienza pancreatica nei pazienti con fibrosi cistica. Il test era facilitato dalla disponibilità di substrati sintetici specifici per i due enzimi (n-acetil-L-tirosina-solfanil-L-arginina-metilestere (TAME) per la tripsina e n-acetil-L-tirosina-etilestere (ATEE) per la chimotripsina). Il test ha buona sensibilità (85%) per le insufficienze del pancreas esocrino di grado elevato ma è oberato da molti falsi positivi.

### **Test al dilaurato di fluoresceina (Pancreolauril Test)**

Si basa sullo stesso principio del test al NBT-PABA, del quale è leggermente più sensibile nelle insufficienze di grado moderato (sensibilità 90%), anche se perde in specificità (possibili interferenze extrapancreatiche). Nel corso di un pasto (50 g di pane bianco, 20 g di burro, una tazza di tè) il paziente assume fluoresceina dilaurato. Questa viene scissa nel duodeno da arilesterasi pancreatiche. La fluoresceina libera è assorbita, coniugata a livello epatico ed eliminata nelle urine. La fluoresceina eliminata con le urine in 10 ore viene

infine misurata. Il test viene ripetuto 2-3 giorni più tardi facendo assumere al paziente fluorescina non coniugata, misurando l'eliminazione di questa nelle urine e facendo infine il rapporto tra la eliminazione della fluorescina nelle due prove.

### **Elastasi pancreatica-1 (E1)**

Recentemente, nella ricerca di un test semplice ma tuttavia sensibile e specifico per il monitoraggio della funzionalità pancreatica esocrina, è stato introdotto un test per la determinazione della concentrazione nelle feci di elastasi pancreatica (E1), con una metodica ELISA. Studi pubblicati recentemente di comparazione di E1 fecale con il test al dilaurato di fluoresceina e l'attività della chimotripsina fecale in pazienti con pancreatite cronica hanno mostrato una sensibilità equivalente al test al dilaurato di fluoresceina, mentre la determinazione dell'attività della chimotripsina fecale è risultata meno sensibile. Per menzionare alcuni aspetti pratici, la determinazione della concentrazione E1 fecale non richiede l'analisi di differenti campioni di feci, in quanto una singola analisi di 100 mg di feci ha dimostrato di essere sufficiente e deve essere ripetuta soltanto in casi incerti.

L'uso degli esami funzionali non è più di tipo diagnostico ma è volto a:

- Stabilire il grado di insufficienza esocrina. Sebbene i test diretti siano i più precisi, sono stati sostituiti da quelli indiretti, non invasivi.
- Decidere quando iniziare la terapia enzimatica sostitutiva. Tale decisione si basa prevalentemente su criteri clinici (comparsa di diarrea e malnutrizione), ma il dosaggio dei grassi fecali potrà confermare l'indicazione alla terapia medica anche nella fase preclinica del malassorbimento evitando così il deterioramento delle condizioni generali del paziente.
- Determinare l'efficacia della terapia modificando eventualmente il dosaggio degli enzimi sostitutivi. Anche per questo scopo è indicato il dosaggio dei grassi fecali.

### **TEST DI FUNZIONALITA' DEL PANCREAS ENDOCRINO**

**La parte endocrina** del pancreas è costituita da gruppi di cellule separati dal tessuto acinare esocrino da un sottile strato reticolare; sono distribuite in maniera disomogenea, più abbondanti nella coda:

- Cellule  $\alpha$  (A) che producono **glucagone** (15-20%);
- Cellule  $\beta$  (B) che producono **insulina** (71-80%);
- Cellule  $\delta$  (D) che producono **somatostatina**;
- Cellule (F) o PP che producono il **polipeptide pancreatico**.

Nella pancreatite cronica la funzione endocrina del pancreas viene valutata mediante il dosaggio sierico di glucagone, insulina, C-peptide ed emoglobina glicosilata, mediante la determinazione della tolleranza glucidica tramite OGTT e in ultimo mediante il test al glucagone.

Diabete mellito o ridotta tolleranza glucidica insorgono nel 30-70% delle pancreatiti croniche mediamente dopo 10-15 anni di storia clinica. La genesi alcolica, il persistente abuso alcolico, la presenza di una insufficienza del pancreas esocrino, la chirurgia resettiva del pancreas ed una familiarità per diabete sono fattori di rischio per lo sviluppo della malattia.

La perdita di almeno l'80% delle cellule beta è la causa del diabete, mentre una ridotta tolleranza glucidica può comparire quando il 20-40% di queste sia conservata. Il diabete nella pancreatite cronica ha alcune caratteristiche peculiari: la notevole fluttuazione dei valori glicemici con una notevole tendenza alla ipoglicemia ed una bassa tendenza alla chetoacidosi. La perdita di cellule  $\alpha$  (che producono glucagone), la presenza di malassorbimento/maldigestione, la presenza di un accelerato transito intestinale e la bassa compliance dei pazienti giustificano questo quadro. Il diabete della pancreatite cronica sembra dare complicanze come il diabete classico sebbene questo non sia facilmente valutabile per la vita relativamente più breve dei pazienti dopo la diagnosi.

## CONCLUSIONI

Nessun esame di laboratorio può confermare la diagnosi di pancreatite acuta e cronica, ma può solo supportarne il sospetto clinico. L'alterazione degli indici di laboratorio in condizioni di clinica silente non ha alcun valore diagnostico. Né indagini di laboratorio significative, in presenza di quadro clinico sospetto, escludono l'indicazione ad indagini strumentali di conferma. Di certo più accurato il ruolo del laboratorio nell'ambito del follow-up clinico dei pazienti e nella determinazione dei criteri prognostici.

## Bibliografia

- Matull WR, Pereira SP, O'Donohue JW. Biochemical markers of acute pancreatitis. *J Clin Pathol* 2006; 59: 340-344
- Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152
- Lankisch PG, Breuer N, Bruns A, Weber-Dany B, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Natural History of Acute Pancreatitis: A Long-Term Population-Based Study. *Am J Gastroenterol*. 2009; 14. [Epub ahead of print]
- Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400
- Swensson EE, Maull KI. Clinical significance of elevated serum and urine amylase levels in patients with appendicitis. *Am J Surg* 1981; 142: 667-670
- Winsel M, Hall C, London NJM. Relation of diagnostic serum amylase levels to aetiology and severity of acute pancreatitis. *Gut* 1992; 33: 982-986
- Sternby B, O'Brien JF, Zinsmeister AR, DiMagno EP. What is the best biochemical test to diagnose acute pancreatitis? A prospective clinical study. *Mayo Clin Proc* 1996; 71: 1138-1144
- UK working Party on acute pancreatitis. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54:1-9
- Malka D, Rosa-Hezode I. Positive and etiological diagnosis of acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin Biol* 2001; 25: 1S153-1S168
- Dominici R., Franzini C.: Fecal Elastase 1 as a Test for Pancreatic Function: a Review. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:325-32.
- Amman R, Akovbiatz A, Largiadier F, et al. Course and outcome of chronic pancreatitis. Longitudinal study of a mixed medical-surgical series of 245 patients. *Gastroenterologz* 1984; 86: 820-828
- Banks S. Chronic pancreatitis: Clinical features and medical management. *Am J Gastroenterol* 1986; 81: 153-167
- Hardt PD, Brendel MD, Kloer HU, Bretzel RG. Is pancreatic diabetes (type 3c diabetes) underdiagnosed and misdiagnosed? *Diabetes Care* 2008; 31 Suppl 2:S165-9.
- Nair RJ, Lawler L, Miller MR. Chronic pancreatitis. *Am Fam Physician*. 2007; 1;76(11):1679-88.