

## ABSTRAKT

Stanovení koncentrace  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve stolici je diagnostickým ukazatelem zánětlivých onemocnění tenkého a tlustého střeva, zejména malabsorpčního syndromu.

$\alpha_1$  – antitrypsin patří mezi skupinu plazmatických bílkovin s antiproteinázovým účinkem. Je syntetizován především v játrech, v malém množství v makrofázích jako antiproteáza fyziologicky inhibuje serinové proteázy neutrofilů. Z jater je uvolňován do krevního řečiště.  $\alpha_1$  – antitrypsin je reaktant akutní fáze. Při zánětlivé reakci je tvorba  $\alpha_1$  – antitrypsinu v játrech stimulována protizánětlivými cytokiny. Vzestup hladiny v časně fázi zánětu koreluje s CRP a dalšími pozitivními proteiny akutní fáze.

Jako spolehlivý senzitivní a specifický marker ztráty proteinů může být clearance  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve stolici.

Stanovení  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve stolici lze provádět technikami ELISA, což je nekompetitivní enzymoimunoanalýza sloužící k detekci protilátek, u níž je využita schopnost imunoglobulinů vázat se na povrch umělých hmot (např. [polystyrenu](#)) a schopnost vázat enzymy na těžké řetězce imunoglobulinových molekul.

Cílem práce bylo porovnat komerční sety pro imunoanalytické stanovení koncentrace  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve stolici metodou ELISA, a to sety firmy Immundiagnostik a Ridascreen. Dále pak zjistit stabilitu  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve vzorku stolice a v extraktu připraveného ze vzorku stolice v závislosti na době a teplotě skladování a zavést metodu stanovení  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve stolici do běžné laboratorní praxe.

Pro porovnání setů bylo vybráno 20 vzorků patientských stolic, u nichž byl předpoklad pozitivního  $\alpha_1$  – antitrypsinu ve stolici, tzn. u pacientů, kteří v době odběrů prodělali zánětlivé onemocnění tenkého nebo tlustého střeva. Naměřené hodnoty koncentrací  $\alpha_1$  – antitrypsinu byly následně vyhodnoceny a pomocí komerčního programu STATISTICA 9.1., byly zhotoveny grafy a vypočítán korelační koeficient (0,91), který naznačuje, že metody spolu dobře korelují.

Pro zjištění stability  $\alpha_1$  – antitrypsinu byly vybrány tři vzorky patientských stolic, u nichž byl předpoklad na pozitivitu  $\alpha_1$  – antitrypsinu. Z každého vzorku byly připraveny extrakty, které byly skladovány při teplotách  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu jednoho dne, osmi dnů a k porovnání extrakt připravený v den měření. Dále byly stejným způsobem skladovány vzorky stolic, z nichž byly v den měření připraveny extrakty, které byly tentýž den analyzovány.

Námi naměřené výsledky hodnot koncentrace  $\alpha_1$  – antitrypsinu v extraktech stolic naznačují, že nejvyšší hodnoty koncentrace  $\alpha_1$  – antitrypsinu vykazují extrakty připravené den před analýzou, skladované v lednici. Tyto výsledky se jeví jako vhodnější varianta stanovení koncentrace  $\alpha_1$  – antitrypsinu, než dle doporučení výrobce připravovat extrakt vždy čerstvý v den analýzy.

Při přípravě extraktu ze stolic, které byly uchovávány různou dobu při různých teplotách vyplynulo, že skladováním stolic 1 den při laboratorní teplotě či v lednici, hodnotu koncentrace  $\alpha_1$  – antitrypsinu výrazně neovlivní. Zatímco skladování stolic 8 dní při laboratorní teplotě nebo v lednici, koncentraci  $\alpha_1$  – antitrypsinu snižuje.

***Klíčová slova :***  $\alpha_1$  – antitrypsin, stolice, zánětlivá onemocnění, ELISA