

Estudio de la función pancreática exocrina

J. Iglesias-García

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Santiago de Compostela. A Coruña. España.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se dispone de diversos estudios aplicables en la práctica clínica para la evaluación de la función pancreática que han conseguido mejorar el diagnóstico de la insuficiencia pancreática exocrina. Se dispone de una batería de pruebas funcionales (tabla I) que abarcan las invasivas con estimulación directa o indirecta del páncreas, orales, de cuantificación de enzimas pancreáticas en sangre y heces, y otras encaminadas a la evaluación de la función endocrina del páncreas. Cualquiera de ellas debe aplicarse en función de su eficacia, precisión, dificultad de realización y coste.

PRUEBAS DIRECTAS

Las pruebas directas son las que determinan la función pancreática basándose en la recogida de jugo pancreático mediante intubación duodenal tras la estimulación del páncreas. Esta estimulación puede ser de carácter exógeno, mediante la administración por vía intravenosa de secretina y colecistocinina o ceruleína (prueba de secretina-ceruleína) o endógena, mediante la administración de una comida de prueba, como la prueba de Lundh, que prácticamente no se emplea en la actualidad.

Determinaciones en el jugo duodenal

El problema fundamental relacionado con la medición del volumen de secreción pancreática, de bicarbonato y del contenido enzimático del jugo duodenal después de la estimulación de la glándula es la prevención de la contaminación con el jugo gástrico y la pérdida de contenido duodenal. Para ello se recomienda el empleo de tubos con

TABLA I. Prueba de función pancreática

Pruebas directas	Prueba de secretina-ceruleína Prueba de Lundh
Pruebas indirectas	Enzimas pancreáticas en suero Grasa fecal (Van de Kamer-NIRA) Enzimas pancreáticas en suero Prueba de la NBT-PABA Prueba del pancreolaúril Prueba del consumo de aminoácidos Prueba del aliento con isótopos estables
Prueba de la función endocrina	Prueba de la tolerancia a la glucosa Insulina, péptido C, glucagón en plasma Prueba de la arginina Polipéptido pancreático en plasma

doble o triple luz, que permiten la aspiración continua del contenido gástrico. Para calcular la pérdida de contenido duodenal se utilizan marcadores no absorbibles del tipo del polietilenglicol o de la vitamina B₁₂ marcada con ⁵⁷Co. A pesar de ello, existen resultados variables y, al mismo tiempo, difíciles de comparar en las distintas publicaciones respecto de cuál es el mejor de los marcadores¹⁻³. En cualquier caso, se considera una técnica correcta cuando la tasa de recuperación se encuentra alrededor del 85%⁴. Otro problema es la evaluación de las concentraciones de enzimas pancreáticas en el aspirado duodenal, bien por la prueba de secretina-ceruleína o por la de Lundh. La isoamilasa salival es un factor de confusión importante, que falsea los hallazgos obtenidos de los valores de amilasa total. De hecho, la isoamilasa salival se encontró en el 75% de los aspirados duodenales de las pruebas de Lundh⁵ y en hasta el 18% de la de secretina-ceruleína⁶. Un hecho importante es que esta contaminación del jugo duodenal por amilasa salival ocurre con mayor frecuencia en pacientes que presentan una alteración de la función pancreática (el 40,5 frente al 8%)⁶.

Prueba de la secretina

Las pruebas que miden la capacidad de secreción pancreática tras una estimulación exógena, como la de la secretina, se basan en la demostración de la disminución

Correspondencia: Dr. J. Iglesias-García.
Servicio de Aparato Digestivo.
Hospital Clínico Universitario de Santiago.
Choupana, s/n. 15706 Santiago de Compostela. A Coruña. España.
Correo electrónico: jiglesiasg@mixmail.com

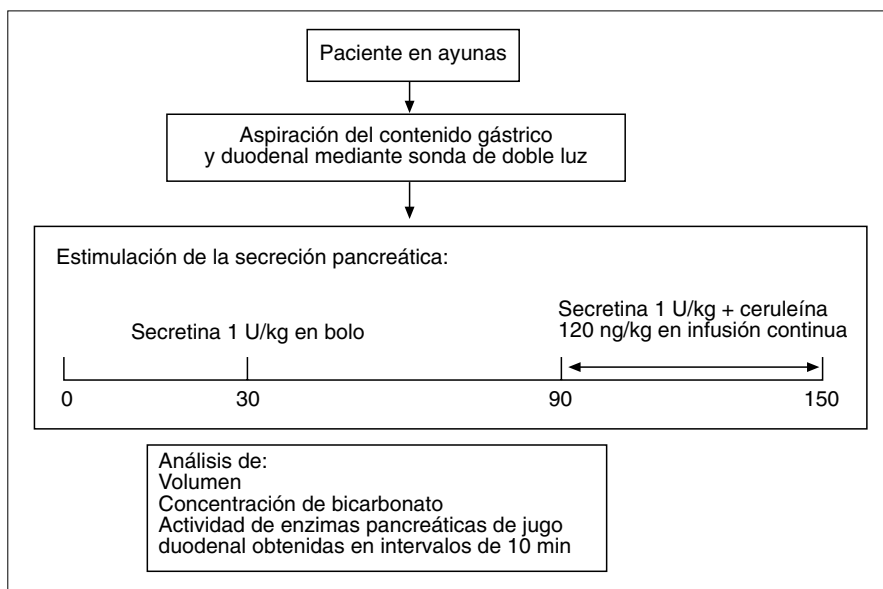


Fig. 1. Método de realización de la prueba de secretina-ceruleína.

de la capacidad secretora del páncreas⁴. La secretina se ha aplicado en diferentes estudios administrada por vía intravenosa, en bolos o en infusión continua, o subcutánea^{1,7-10}. Sin embargo, los estudios no son comparables porque emplean distintos tipos de secretina y diferentes métodos de medición.

Prueba de la secretina-ceruleína

Continúa siendo la más válida para la valoración de la función pancreática^{4,11-13}. La metodología de realización de la prueba se expresa en la figura 1. El volumen, la concentración de bicarbonato y la actividad de la amilasa, la lipasa, la tripsina y la quimotripsina se determinan en las muestras obtenidas del jugo duodenal¹⁴. Por ejemplo, en los estadios más avanzados de la pancreatitis crónica se encuentra disminuida la secreción de todos los parámetros de forma significativa. Sin embargo, en los estadios iniciales de esta enfermedad están disminuidos únicamente 1 o 2 parámetros. La secreción tanto de lipasa¹¹ como de amilasa¹³ o bicarbonato⁴ se ha publicado como el primer parámetro en modificarse en los estadios iniciales de una pancreatitis crónica.

La eficacia de la prueba de la secretina-ceruleína para el diagnóstico de la pancreatitis crónica es muy alta, con unas cifras de sensibilidad y especificidad por encima del 90%, y presentan una eficacia diagnóstica igual o incluso superior a técnicas de imagen, como la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica o la ultrasonografía endoscópica, en el diagnóstico de la pancreatitis crónica.

Un problema relacionado con la prueba es que las enzimas pancreáticas se inactivan rápidamente en el jugo duodenal, de forma que las muestras deben tomarse en tubos que contengan antiproteasas (habitualmente aprotinina) y procesarse inmediatamente. A pesar de ello, siempre se produce una inactivación no cuantificable de las

enzimas (fundamentalmente amilasa y lipasa). Sin embargo, recientemente se ha publicado una buena alternativa, la cuantificación de la concentración del jugo duodenal del cinc. La secreción pancreática de cinc se produce en asociación a las metaloproteasas. Una molécula de cinc va unida a una molécula de metaloproteasas, de forma que la concentración de cinc es un perfecto indicador de la secreción de estas enzimas, con la ventaja añadida de que el cinc es fácilmente cuantificable y muy estable en el jugo duodenal, de forma que las muestras no requieren un procesamiento especial. El grado de concordancia entre el resultado de la prueba de la secretina-ceruleína basada en la determinación del bicarbonato y las enzimas (amilasa, lipasa y quimotripsina) y el de la misma prueba basada en la simple cuantificación de cinc es altamente significativa: presenta una sensibilidad y una especificidad del 97 y el 91%, respectivamente, por lo que esta última es una forma fácil y eficaz de permitir la aplicación de la prueba de la secretina a la práctica clínica rutinaria¹⁵.

PRUEBAS INDIRECTAS

Estos grupos de exploraciones se basan en la evaluación de la función pancreática exocrina por métodos que no requieren intubación duodenal. Ésta se valora mediante la determinación de la concentración de enzimas pancreáticas en el suero o las heces, o bien evaluando la capacidad de digestión de la glándula mediante la administración previa de una comida de prueba.

Enzimas pancreáticas en el suero

La presencia de una concentración anormalmente disminuida de las enzimas pancreáticas es predictiva de pancreatitis crónica avanzada, y se correlaciona con la pre-

sencia de insuficiencia pancreática exocrina¹⁶⁻¹⁸. Su determinación también es útil para el diagnóstico diferencial entre la esteatorrea de origen pancreático y la de origen extrapancreático^{19,20}. Sin embargo, los valores séricos de las enzimas pancreáticas pueden encontrarse en valor normal o elevado, a pesar de tener una alteración de la función pancreática. En las distintas series se han encontrado valores bajos en un 20-32% de los pacientes, aumentados en un 22-39%, y normales en un 49-71%^{18,21}.

Las pruebas evocativas son una alternativa a la intubación duodenal, y valoran la elevación en las concentraciones de amilasa, lipasa y tripsina inmunorreactiva tras la estimulación con secretina o ceruleína, bombesina, morfina y prostigmina. En los casos en que el páncreas se encuentra sano, la elevación de las enzimas es insignificante; sin embargo, en casos de hipofunción pancreática, particularmente en estadios iniciales, la elevación es importante. Sin embargo, otros estudios no han podido demostrar una eficacia suficiente como para emplearlos en la práctica clínica²².

Enzimas pancreáticas en las heces

Cerca del 0,5% de la quimotripsina y la tripsina secretadas por el páncreas aparecen en las heces. El desarrollo de pequeños sustratos moleculares sintéticos ha permitido la realización de una estimación titrimétrica específica de ambas enzimas en heces, aunque recientemente se han desarrollado métodos fotométricos más sencillos²³⁻²⁷.

La determinación de las actividades fecales de la tripsina y, básicamente, la quimotripsina se ha aplicado en la evaluación de la insuficiencia pancreática exocrina en el contexto de la pancreatitis crónica por su disponibilidad y no invasividad. Sin embargo, algunos factores limitan su eficacia, como la no existencia de una estandarización de la ingesta previa a la realización de la prueba, y pueden cambiar la secreción de la enzima y su actividad en las heces y, sobre todo, por la quimotripsina, que sufre una inactivación variable durante el tránsito intestinal, lo que condiciona la necesidad de establecer un punto de corte bajo para mantener la especificidad de la prueba, por lo que disminuye su sensibilidad. En general, se considera normal una actividad fecal de quimotripsina superior a 3 U/g, aunque unos valores entre 3 y 6 U/g deben considerarse dudosos. La probabilidad de falsos negativos es alta, próxima al 30-40%, en función del grado de disfunción pancreática. Por otra parte, la probabilidad de falsos positivos existe, aunque es poco frecuente, fundamentalmente en pacientes con diarrea acuosa, debido al efecto de dilución de enzimas²⁸. En los pacientes en tratamiento enzimático sustitutivo por vía oral, la prueba de la quimotripsina fecal no permite evaluar la función pancreática del paciente, ya que mide tanto enzimas endógenas como exógenas, por lo que debe suspenderse el tratamiento al menos 3 días antes de la toma de la muestra.

Más importante es la determinación de la elastasa pancreática fecal. Esta enzima es altamente estable en la luz intestinal; presenta concentraciones en heces hasta 5 ve-

ces superiores a las objetivadas en el jugo pancreático. Su correlación con la prueba de la secretina-ceruleína es alta. La concentración de la enzima se mide mediante la técnica de ELISA, no su actividad fecal, y no se presentan problemas derivados de una potencial inactivación. Una gran ventaja es que mide la elastasa específica humana, sin interferencias con los preparados exógenos y, por ello, no requiere de la suspensión del tratamiento previa a su realización. Su determinación es importante en la evolución diagnóstica de la pancreatitis crónica; su eficacia en el diagnóstico de esta enfermedad es superior a la de la prueba de la quimotripsina, con una sensibilidad de hasta el 100% en pacientes con insuficiencia pancreática exocrina por pancreatitis crónica moderada y grave, hasta una especificidad del 90%²⁹. Dada su alta eficacia y no invasividad, esta prueba podría considerarse de elección para el cribado en pacientes con sospecha de pancreatitis crónica y para la realización de estudios epidemiológicos o de detección de la alteración funcional exocrina pancreática.

Cuantificación de grasa fecal

Se trata de la prueba fundamental, el patrón oro para el diagnóstico de mala digestión grasa o esteatorrea. Mediante los análisis de heces podemos determinar el nitrógeno fecal, que está aumentado en sujetos con creatorrea (> 2,5 g en 24 h), excreción relacionada con los valores de tripsina en pacientes con pancreatitis crónica³⁰, pero lo más importante es el análisis y la cuantificación de la grasa fecal^{31,32}. Para ello la prueba clásica es la de Van de Kamer, que consiste en seguir durante 5 días una dieta con un contenido fijo de grasa, entre 80 y 100 g/día, y recoger la totalidad de las heces durante los 3 últimos días. La cantidad de grasa presente en la muestra se determina mediante homogeneización de las heces, hidrólisis de los triglicéridos en ácidos grasos en álcali, acidificación, extracción en disolvente y tritación de los ácidos grasos^{33,34}. Actualmente se dispone de una prueba alternativa para el análisis de rutina de la grasa fecal y el nitrógeno, mediante un análisis de reflectancia de infrarrojos³⁵⁻³⁸. Este método se basa en la medida de la radiación del espectro infrarrojo en una muestra aislada de las heces; se obtienen resultados en menos de un minuto, sin la necesidad de procesar las muestras ni emplear reactantes químicos. Además del diagnóstico de insuficiencia pancreática exocrina, la cuantificación de la grasa fecal es útil en la monitorización del tratamiento sustitutivo con enzimas pancreáticas.

Pruebas orales

Las pruebas indirectas de función pancreática más empleadas son las que miden el efecto de la secreción pancreática en una comida de prueba. Asociados a esa comida se utilizan distintos marcadores que son hidrolizados por la acción digestiva de las enzimas pancreáticas y,

posteriormente, los metabolitos resultantes son reabsorbidos por lo que pueden medirse tanto en el suero como en la orina tras su eliminación renal. La cantidad de marcador recuperado es un índice de la función pancreática exocrina. Los marcadores más empleados son el ácido NBT-paraaminobenzoico (prueba de NBT-PABA) y el dilaurato de fluoresceína (prueba de pancreolauril)³⁹⁻⁴². La medición de ambos marcadores (PABA y fluoresceína, respectivamente) en el suero evita los problemas que pueden derivarse de su determinación urinaria (interferencias en casos de alteración en la función renal), simplificando la realización de las pruebas al evitar la repetición de la exploración en 2 días sucesivos, en los que se administraba el marcador conjugado y libre respectivamente⁴³. De ellas la del pancreolauril es la principal prueba oral para la valoración de la función pancreática exocrina.

Los diferentes pasos para la realización de la prueba del pancreolauril se muestran en la tabla II. Dos puntos relevantes son: la administración de metoclopramida para estimular el vaciamiento gástrico, acortar la duración de la prueba y evitar los resultados patológicos relacionados con las alteraciones en la motilidad gastrointestinal, y la administración de secretina que, al provocar la secreción de las enzimas previamente sintetizadas y almacenadas, provoca que el estímulo de la comida de prueba requiera una nueva síntesis enzimática, lo que aumenta la sensibilidad de la prueba. Siguiendo este protocolo, una función pancreática exocrina normal viene definida por un pico de fluoresceína en suero mayor de 4,5 g/ml. Resultados entre 2,5 y 4,5 g/ml son índice de pancreatitis crónica moderada, y valores por debajo de 2,5 g/ml lo son de pancreatitis crónica grave^{42,44}. Los pacientes que presentan esteatorrea suelen tener valores por debajo de 1,8 g/ml. En el contexto del diagnóstico de pancreatitis crónica la prueba tiene una sensibilidad del 100% en los estadios moderados y graves de la enfermedad, y alcanza el 75% en los estadios iniciales⁴². Se puede encontrar resultados patológicos de esta prueba en pacientes gastrectomizados, en aquellos con enfermedad intestinal difusa que se asocia a un cuadro de malabsorción y en pacientes con enfermedades hepatobiliares asociadas a ictericia⁴⁵. En estos casos existe bien una alteración de la coordinación entre el vaciamiento gástrico y el estímulo posprandial de la secreción pancreática (posgastrectomía: insuficiencia pancreática secundaria), de la hidrólisis del dilaurato de fluoresceína (colestasis) o de la absorción de la fluoresceína (malabsorción).

Prueba del consumo de aminoácidos plasmáticos

Se basa en el consumo de aminoácidos plasmáticos por el páncreas en respuesta al estímulo con secretina o ceruleína. El páncreas exocrino tiene una gran capacidad de sintetizar proteínas, por lo que al ser estimulado consume una gran cantidad de aminoácidos plasmáticos. En los sujetos sanos la estimulación pancreática produce una disminución transitoria de la concentración de los aminoácidos en el suero, cuantificada en más de un 12%. En los

TABLA II. Método de realización de la prueba de pancreolauril⁴²

<p><i>Desarrollo de la prueba del pancreolauril</i></p> <p>Paciente en ayunas Canulación de la vía venosa periférica Muestra basal de sangre (10 ml) Administración por vía intravenosa de secretina 1 U/kg peso (> 2-3 min) Comida de prueba (40 g de pan blanco, 20 g de mantequilla, 200 ml de té), junto con 1 mmol de dilaurato de fluoresceína extendido en el pan con la mantequilla Administración por vía intravenosa de 10 mg de metoclopramida Toma de muestras de sangre (5 ml) a 120, 150, 180 y 240 min tras la ingestión de la comida de prueba</p> <p><i>Medida de la concentración de fluoresceína sérica</i></p> <p>Centrifugación de las muestras de sangre Preparación del suero de calibración, añadiendo 60 l de una solución de fluoresceína (10 mg de fluoresceína disódica en 100 ml de agua destilada) a 1,44 ml de suero basal Mezclar 500 l de cada suero (suero de calibración, suero basal, y suero obtenido entre los min 120 y 240) con 500 l de KOH etanólico a una concentración de 0,5 ml/l Incubación durante 60 min a 70 °C Enfriar a temperatura ambiente Añadir a cada muestra 1 ml de sulfato magnésico a una concentración de 0,15 mol/l. Mezclar y centrifugar a 2.671 g durante 10 min Medida fotométrica del sobrenadante a 492 nm frente a agua</p> <p><i>Cálculo de la concentración de fluoresceína</i></p> <p>Cálculo del factor de calibración (F): $F = 4/A_c - A_0$, donde A_c es la absorbancia del suero de calibración a 492 nm y A_0 es la de la muestra basal Sustracción de la absorción media de la muestra basal (A_0) de la media de cada una de las otras muestras (A_{120} hasta A_{240}) Cálculo de las concentraciones de fluoresceína: [fluoresceína] = $F \cdot A_i$, donde A_i es la absorbancia de cada muestra (120, 150, 180 y 240 min) después de la sustracción de A_c Resultado normal: pico > 4,5 mg/l</p>
--

pacientes con insuficiencia pancreática grave, al disminuir la capacidad de sintetizar proteínas, la disminución de los valores séricos de aminoácidos es escasa, por debajo del 12%^{46,47}. Sin embargo, se trata de una prueba poco eficaz para el diagnóstico de la insuficiencia pancreática, por lo que no tiene aplicación práctica en la rutina clínica⁴⁸.

Prueba del aliento

En los últimos años se han desarrollado diversos sustratos marcados con ¹³C para el estudio de la función pancreática exocrina. Dentro de estos sustratos clásicamente se ha empleado una mezcla de triglicéridos marcados (¹³C-MTG) y el octanoato de colesterol (¹³C-OC). Estos sustratos son digeridos por la lipasa pancreática en la luz intestinal liberándose ¹³CO₂, que es absorbido y eliminado en el aire espirado. Nuestro grupo recientemente ha optimizado la prueba del aliento para el diagnóstico de mala digestión grasa (fig. 2). Se basa en la administración de una comida de prueba con 16 g de grasa en la que se incluyen 250 mg de sustrato marcado (¹³C-MTG). Previamente (basal) y cada 15 min tras la comida durante 6 h se recogen muestras de aire espirado en tubos de 10 ml. Con el fin de atenuar en la medida de lo posible el efecto de la variabilidad interindividual del vaciamiento gástrico se administran 20 min antes de la comida cisaprida o meto-

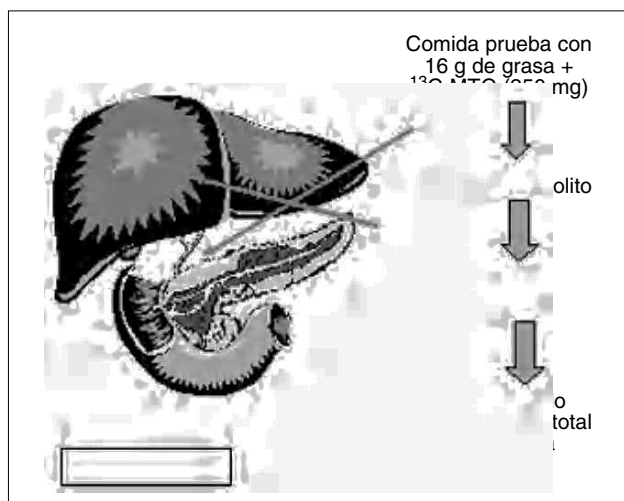


Fig. 2. Prueba de aliento optimizada.

clopramida por vía oral. Las muestras de aire espirado son analizadas mediante espectrometría de masas para la cuantificación de ^{13}C , en forma de cociente $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Se considera resultados de la prueba el valor máximo de ^{13}C en aire espirado (pico) y el área bajo la curva (AUC) durante las 6 h de la prueba. Estos resultados presentan una correlación altamente significativa con la concentración fecal de grasa (prueba de Van de Kamer), por lo que su valor radica en el diagnóstico de esteatorrea^{49,50}. Posteriormente a su optimización, se confirmó su utilidad en el diagnóstico de la esteatorrea en la práctica clínica, y mostró una sensibilidad y una especificidad del 91%, para un punto de corte de recuperación acumulada de $^{13}\text{CO}_2$ (en porcentaje) del 57%⁵¹. Esta prueba de función pancreática con estos marcadores permite medir la función pancreática exocrina de un modo rápido, no invasivo y eficaz, y puede repetirse cuantas veces se considere necesario, de forma que puede utilizarse no sólo para la detección de la insuficiencia pancreática exocrina sino también para la optimización de su tratamiento individualizado⁵². Esto supone un importante avance en el manejo clínico de estos pacientes (pancreatitis crónica, cáncer de páncreas, tras pancreatitis aguda grave, fibrosis quística, pacientes intervenidos quirúrgicamente del tracto gastrointestinal proximal, etc.).

BIBLIOGRAFÍA

- Lankish PG. Secretin test or secretin-CCK test-gold standard in pancreatic function testing? En: Gyr KE, Singer MV, Sarles H, editors. Pancreatitis - Concepts and classification. Excerpta Medica, ICS 642, Amsterdam-New York; 1984. p. 247-59.
- Lankish PG, Creutzfeldt W. Effect of synthetic and natural secretin on the function of the exocrine pancreas in man. *Digestion*. 1981;22:61-5.
- Rune SJ, Worning H. Evaluation of the marker technique for measurement of exocrine pancreatic secretion rate. *Scand J Gastroenterol*. 1985;20:525-9.
- Wormsley KG. Test of pancreatic secretion. *Clin Gastroenterol*. 1978;7:529-44.
- Skude G, Ishe I. Salivary amylase in duodenal aspirates. *Scand J Gastroenterol*. 1976;11:17-20.
- Lankish PG, Otto J. Salivary isoamylase in duodenal aspirates. *Dig Dis Sci*. 1986;31:1299-302.
- Lagerlöf HO. Pancreatic function and pancreatic disease. Studied by means of secretin. *Acta Med Scand*. 1942;128:1-289.
- Dreiling DA, Janowitz HD. The measurement of pancreatic secretory function. En: Ciba Foundation Symposium on the Exocrine Pancreas. London: Churchill; 1962. p. 225-52.
- Burton P, Evans DG, Harper AA, Howat HT, Olesky S, Scott JE, et al. A test of pancreatic function in man based on the analysis of duodenal contents after administration of secretin and pancreozymin. *Gut*. 1960;1:111-24.
- Petersen H, Myren J. Secretin dose-response in health and chronic pancreatic inflammatory disease. *Scand J Gastroenterol*. 1975;10:851-61.
- Gullo L. Value and clinical role of intubation tests in chronic pancreatitis. En: Beger HG, Buchler M, Ditschuneit H, Malfertheiner P, editors. Chronic pancreatitis. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag; 1990. p. 287-90.
- Gyr H, Agrawal NM, Felsenfeld O, et al. Comparative study of secretin and Lundh test. *Am J Dig Dis*. 1975;20:506-12.
- Nagata A, Homma T, Oguchi H, et al. Study of chronic alcoholic pancreatitis by means of serial pancreozymin-secretin tests. *Digestion*. 1986;33:135-45.
- Malfertheiner P, Büchler M. Correlation of imaging and function in chronic pancreatitis. *Radiol Clin North Am*. 1989;27:51-64.
- Dominguez-Muñoz JE, Martínez SM, Leodolter A, Malfertheiner P. Quantification of pancreatic cinc output as pancreatic function test: making the secretin-caerulein test applicable to clinical practice. *Pancreatology*. 2004;4:57-62.
- Berk JE, Ayulo JA, Fridhandler L. Value of pancreatic-type isoamylase assay as an index of pancreatic insufficiency. *Dig Dis Sci*. 1979;24:6-10.
- Johnson SG, Levitt MD. Relation between serum pancreatic isoamylase concentration and pancreatic exocrine function. *Dig Dis Sci*. 1978;23:914-8.
- Magid E, Horsing M, Rune SJ. On the quantitation of isoamylases in serum pancreatic and the diagnostic value of serum pancreatic type amylase in chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol*. 1977;12:621-7.
- Lankisch PG, Koop H, Otto J. Estimation of serum pancreatic isoamylase: its role in the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency. *Am J Gastroenterol*. 1986;81:365-8.
- Adrian TE, Besterman HS, Mallinson CN. Plasma trypsin in chronic pancreatitis and pancreatic adenocarcinoma. *Clin Chim Acta*. 1979;97:205-12.
- Dominguez-Muñoz JE, Pieramico O, Büchler M, Malfertheiner P. Ratios of different serum pancreatic enzymes in the diagnosis and staging of chronic pancreatitis. *Digestion*. 1993;54:231-6.
- Otte M. Pankreasfunktionsdiagnostik. *Internist*. 1979;20:331-40.
- Bode C, Bode JC. Usefulness of a simple photometric determination of chymotrypsin activity in stools - Results of a multicentric study. *Clin Biochem*. 1986;19:333-7.
- Ehrhardt-Schmelzer S, Otto J, Schaleger R, Lankisch PG. Faecal chymotrypsin for investigation of exocrine pancreatic function: a comparison of two newly developed tests with the titrimetric method. *Z Gastroenterol*. 1984;22:647-51.
- Junge W. Assessment of titrimetric and photometric methods for the determination of chymotrypsin catalytic activity in stool. *Clin Biochem*. 1986;19:323-8.
- Remtulla MA, Durie PR, Goldberg DM. Stool chymotrypsin activity measured by a spectrophotometric procedure to identify pancreatic disease in infants. *Clin Biochem*. 1986;19:341-7.
- Muller L, Wisniewski ZS, Hansky J. The measurement of faecal chymotrypsin: a screening test for pancreatic exocrine insufficiency. *Aust Ann Med*. 1970;1:47-9.
- Durr HR, Otte M, Forell MM, Bode JC. Faecal chymotrypsin: a study on its diagnostic value by comparison with the secretin-cholecystokinin test. *Digestion*. 1978;17:404-9.
- Dominguez-Muñoz JE, Hieronymus C, Sauerbruch T, Malfertheiner P. Faecal elastase test in the diagnosis and staging of chronic pancreatitis. *Digestion*. 1994;55:292-3.

30. DiMagno EP, Go VLW, Summerskill HJ. Relations between pancreatic enzyme outputs and malabsorption in severe pancreatic insufficiency. *N Engl J Med*. 1973;288:813-5.
31. Bo-Linn G, Fordtran JS. Fecal fat concentration in patients with steatorrhea. *Gastroenterology*. 1984;87:319-22.
32. Lembcke B, Grimm K, Lankish PG. Raised fecal fat concentration is not valid indicator of pancreatic steatorrhea. *Am J Gastroenterol*. 1987;82:526-31.
33. Van de Kamer JH, Huinik HB, Weyers HA. Rapid method for the determination of fat in feces *J Biol Chem*. 1949;177:347-55.
34. Tomaszewski L. Rapid and accurate method for determination of total lipids in feces. *Clin Chem Acta*. 1975;61:113-20.
35. Benini L, Caliani S, Guidi GC, Brentegani MT, Castellani G, Sembenini C, et al. Near infrared spectroscopy for fecal fat measurement: comparison with conventional gravimetric and titrimetric methods. *Gut*. 1989;30:1165A-7A.
36. Stein J, Purschian B, Caspary WF, Lemcke B. Validation of near-infrared reflectance analysis (NIRA) for assessment of fecal fat, nitrogen and water. A new approach to malabsorption syndromes [abstract]. *Gastroenterology*. 1992;102:243.
37. Stein J, Purschian B, Bieniek U, Caspary WF, Lemcke B. Near-infrared reflectance analysis (NIRA): A new dimension in the investigation of malabsorption syndromes. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1994;6:889-94.
38. Stein J, Purschian B, Zeuzem S, Lemcke B, Caspary WF. Quantification of fecal carbohydrates by near-infrared reflectance. *Clin Chem*. 1996;42:309-12.
39. Toskes PP. Bentriomide a a test of exocrine pancreatic function in adult patients with exocrine pancreatic insufficiency. Determination of appropriate dose and urinary collection interval. *Gastroenterology*. 1983;85:565-9.
40. Malfertheiner P, Peter M, Junge U, Ditschuneit H. Indirect pancreatic function test pancreolauryl -Its value in diagnosis of chronic pancreatitis. *Klin Wschr*. 1983;61:193-8.
41. Lankish PG, Schreiber A, Otto J. Pancreolauryl test. Evaluation of a tubeless pancreatic function test in comparison with other indirect and direct function tests for exocrine pancreatic function. *Dig Dis Sci*. 1983;28:490-3.
42. Dominguez-Muñoz JE, Malfertheiner P. Optimized serum pancreolauryl test for differentiating patients with and without chronic pancreatitis. *Clin Chem*. 1998;44:869-75.
43. Lang C, Gyr K, Tonko I, Conen D, Stalder GA. The value of serum PABA as a pancreatic function test. *Gut*. 1984;25:508-12.
44. Domínguez-Muñoz JE, Pieramico O, Büchler M, Malfertheiner P. Clinical utility of serum pancreolauryl test in diagnosis and staging of chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 1993;88:1237-41.
45. Malfertheiner P, Büchler M, Beger HG, Ditschuneit H. Exocrine pancreatic function in correlation to morphological findings (assessed by different imaging procedures) in chronic pancreatitis. En: Sarles H, Singer M, Gyr R, editors. *Pancreatitis. Concepts and classification*. Elsevier: Amsterdam; 1984. p. 291-9.
46. Domschke S, Heptner G, Kolb S, Siler D, Schneider MU, Domschke W. Decrease in plasma aminoacids level after secretin and pancreozymin as an indicator of exocrine pancreatic function. *Gastroenterology*. 1986;90:1031-8.
47. Gullo L, Pezzilli R, Ventrucci M, Barbara L. Caerulein induced plasma amino acid decrease: a simple, sensitive and specific test of pancreatic function. *Gut*. 1990;31:926-9.
48. Maringhini A, Nelson DK, Jones JD, DiMagno EP. Is the plasma amino acid consumption test an accurate test of exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology*. 1994;106:488-93.
49. Iglesias-García J, Vilarino M, Lourido MV, Villanueva A, Barreiro M, Iglesias-Canle J, et al. Development of a Breath Test for the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency in Clinical Practice. *Pancreatol*. 2002;2:A229.
50. Domínguez Muñoz JE, Leodolter A, Malfertheiner P. Accuracy of the ¹³C-mixed triglyceride breath test (¹³C-MTG) for the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency (EPI). *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997; Suppl.
51. Iglesias García J, Vilarino Insua M, Iglesias Rey M, Lourido V, Domínguez Muñoz E. Accuracy of the Optimized ¹³C- Mixed Triglyceride Breath test for the diagnosis of Steatorrhea in clinical practice. *Gastroenterology*. 2003;124 Suppl 1:A-631.
52. Iglesias García J, Iglesias-Rey M, Vilarino Insua M, Lariño-Noia J, Domínguez Muñoz JE. Evaluation of the efficacy of oral pancreatic enzyme substitution therapy in patients with exocrine pancreatic insufficiency by an optimized ¹³C-Mixed triglyceride breath test. *Gastroenterology*. 2004;126 Suppl 2: A-29.