Stężenie IL-17 w surowicy w przebiegu ostrego zapalenia trzustki z uwzględnieniem stopnia ciężkości choroby

Serum IL-17 concentration in acute pancreatitis with the emphasis on the severity of the disease

Małgorzata Czarny-Działak[1], **Stanisław Głuszek**[2,3]

[1]Wszechnica Świętokrzyska w Kielcach
[2]Wydział Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego w Kielcach
[3]Oddział Chirurgii Ogólnej Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego w Kielcach

Przegląd Gastroenterologiczny 2009; 4 (1): 31–40

Słowa kluczowe: ostre zapalenie trzustki, cytokiny, interleukina 17.
Key words: acute pancreatitis, cytokines, interleukin-17.

Adres do korespondencji: dr n. med. Małgorzata Czarny-Działak, ul. Malachitowa 32a, 25-705 Kielce, tel. +48 41 345 29 72, e-mail: drmczarny@interia.pl

Streszczenie

Wprowadzenie: Ciężka postać ostrego zapalenia trzustki (OZT) wiąże się ze znacznym ryzykiem rozwoju uogólnionej reakcji zapalnej, niewydolności wielonarządowej i zgonu.
Cel: Ocena stężeń interleukiny 17 (IL-17) w surowicy chorych z OZT w zależności od przebiegu klinicznego lekkiej i ciężkiej postaci choroby.
Materiał i metody: Badanie przeprowadzono w 30-osobowej grupie osób z objawami OZT. Wiek chorych (15 z lekką, 15 z ciężką postacią choroby) wynosił 30–60 lat. Dobór pacjentów do obu grup przeprowadzono za pomocą klasyfikacji APACHE II i Ransona. Wyniki badań chorych z OZT porównywano z 10-osobową grupą kontrolną – ochotników w wieku 30–60 lat. We wszystkich grupach oznaczano stężenie IL-17, PMN elastazy, białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP) w surowicy bezpośrednio po przyjęciu do szpitala (doba 0.), a także w 1., 2. i 6. Stężenia IL-17 oceniano testem ELISA, a w 1. i 6. dobie hospitalizacji – układ krzepnięcia. Wyniki badań poddano analizie statystycznej testem Wilcoxona dla sumy rang.
Wyniki: Stężenia IL-17 zwiększają się w sposób znamienny statystycznie w 0., 1. i 2. dobie hospitalizacji, jednak nie korelują ze stopniem ciężkości choroby w badanych grupach. W 6. dobie hospitalizacji stężenia IL-17 nie wzrastały natomiast u chorych w sposób znamienny statystycznie. Uzyskane wyniki dotyczące elastazy wykazują, że ocena stężenia elastazy w surowicy może stanowić przydatny czynnik rozpoznawania choroby – różnicuje grupę chorych z ciężkim OZT od ochotników (w 0., 1., 2. i 6. dobie) oraz chorych z lekkim OZT od ochotników (w 0., 1. i 6. dobie). Stężenie elastazy nie może natomiast być pomocne w ocenie stopnia ciężkości choroby ze względu na brak różnic znamiennych statystycznie między chorymi z lekkim i ciężkim OZT w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji. W badaniach własnych stwierdzono, że we

Abstract

Introduction: The severe form of acute pancreatitis is connected with serious risk of the development of inflammatory response, failure of organs, and eventually death.
Aim: To evaluate the concentration of interleukin-17 in the serum of patients suffering from acute pancreatitis with reference to the clinical course of mild and severe forms.
Material and methods: The examination was conducted on a group of 30 people with the symptoms of acute pancreatitis. The age of patients ranged from 30 to 60. There were 15 people with the mild form and 15 with the severe form of the disease. Patients were chosen on the basis of the APACHE II and Ranson tests. The results of patients with acute pancreatitis were compared with those from 10 people of the control group – volunteers aged 30 to 60 years. In those groups, 30 patients with acute pancreatitis and 10 volunteers were examined to measure interleukin-17, elastase and proteins immediately after admission to hospital (day "0"), then on the first, second and sixth day. The concentration of interleukin-17 was evaluated based on the ELISA test. On the first and sixth day of hospitalization blood coagulation was measured. The results were evaluated with the Wilcoxon test.
Results: On the basis of the examination one can observe that the concentration of interleukin-17 increases statistically significantly on the zero, first and second day of hospitalization. However, they do not correlate with degrees of the disease within the groups of people that were examined. On the sixth day of hospitalization the concentration of interleukin-17 does not increase statistically significantly. The results concerning elastase indicate that the rate of its activity in the serum could be a helpful factor in the diagnosis. It is different in the group of patients with the severe form of acute pancreatitis and the volunteers (on

wszystkich dobach stężenie CRP było większe u chorych z ciężkim OZT niż u chorych z lekką postacią. Istotna statystycznie różnica między tymi grupami ujawniła się tylko w dobie 0. Średnie wartości wskaźnika INR w 1. i 6. dobie są w grupie chorych z ciężkim OZT większe niż w grupie chorych z postacią lekką. W obu grupach u żadnego z chorych nie odnotowano innych znaczących odchyleń w układzie krzepnięcia zarówno w 1., jak i 6. dobie hospitalizacji. Śmiertelność w grupie osób z ciężkim OZT wynosiła 13,3%, nie stwierdzono zgonu w grupie chorych z lekką postacią.

Wnioski: Ocena stężeń IL-17 w surowicy nie może być przydatna do określania ciężkości OZT, może być pomocna natomiast w rozpoznawaniu OZT.

the zero, first, second and sixth day). Nonetheless, the activity of elastase could not serve to diagnose the degree of disease due to the lack of statistically significant differences between patients with mild and severe acute pancreatitis on the zero, first, second and sixth day of hospitalization. In our own examination we have observed that every day, patients with the severe form of acute pancreatitis had greater concentration of CRP than patients with the mild form of the disease. However, a statistically significant difference between those groups was revealed only on the zero day. The average results of the INR rate on the first and sixth day in the group of people with the severe form of acute pancreatitis are higher than those suffering from the mild form. In both groups, none of the patients was noticed for any other deviation in the blood coagulation on the first and sixth day of hospitalization. The mortality rate in the group of severe acute pancreatitis was 13.3%, whereas in the group of the mild form there was no case of death.

Conclusions: Concentration of interleukin-17 in serum could not serve to evaluate the severe form of acute pancreatitis. However, it could be helpful in the diagnosis of this disease.

Wprowadzenie

Ostre zapalenie trzustki (OZT) jest jej ostrym stanem zapalnym, podczas którego dochodzi do przedwczesnej aktywacji proenzymów trzustkowych, a także uszkodzenia trzustki oraz sąsiadujących tkanek czy też odległych narządów [1].

Czynnikami ryzyka ciężkiego OZT są ciężki stan chorego w ocenie klinicznej (w chwili jego przyjęcia do szpitala, po 24 i 48 godz.), wynik w skali APACHE II > 8 (w sumie przy przyjęciu i po 24 godz.), wynik w skali Ransona > 3 pkt (w sumie przy przyjęciu i po 48 godz.) [2, 3] oraz wynik stężenia białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP) > 150 mg/l (po 24 i 48 godz.) [2, 4]. Skala Ransona, APACHE II i CRP okazują się ważnymi wskaźnikami ciężkości przebiegu OZT [3]. Stopień ciężkości przebiegu choroby dobrze odzwierciedla także tomograficzny wskaźnik ciężkości OZT (skala Balthazara) [5, 6].

Ważne znaczenie w patogenezie OZT mają cytokiny. Są one mediatorami zarówno reakcji zapalnych, jak i immunologicznych oraz uczestniczą w regulacji krwiotworzenia [7, 8].

Interleukina 17 (IL-17) jest wytwarzana przez aktywowane limfocyty T [9–12], indukuje produkcję IL-8, IL-6, MCP-1 (*monocyte chemotactic protein*-1), czynnika wzrostowego kolonii granulocytów (ang. *granulocyte colony-stimulating factor* – G-CSF) oraz prostaglandyny E2 (PGE2) w komórkach nabłonka i śródbłonka naczyniowego, a także w ludzkich trzustkowych miofibroblastach (to połączenie między komórkami T – ich mediatorami – a procesem zapalnym w trzustce). Proces ten jest blokowany przez monoklonalne przeciwciało anty-IL-17 [13]. Interleukina 17, podobnie jak inne cytokiny, wykazuje plejotropowy [14] mechanizm działania (przeważa jednak jej efekt prozapalny) [15, 16]. Należy więc przypuszczać, że również w OZT może pełnić podobną funkcję. Problem ten wymaga dalszych badań. Interleukina 17 indukuje powstawanie IL-8 i IL-6 w miofibroblastach ludzkiej trzustki [17], te natomiast są głównymi cytokinami prozapalnymi biorącymi udział w tym procesie.

Od wielu lat poszukuje się zestawu parametrów laboratoryjnych, które odznaczałyby się wysoką czułością i specyficznością oraz odgrywałyby ważną rolę w ocenie rokowania. Jednym ze wskaźników wydaje się IL-17, która może mieć znaczenie rokownicze.

Cel

Celem pracy była ocena stężeń IL-17 w surowicy chorych z OZT w zależności od przebiegu klinicznego choroby (postać lekka i ciężka).

Materiał i metody

Badania kliniczne przeprowadzono w grupie 30 chorych z OZT (20 mężczyzn, 10 kobiet) i 10 ochotników (4 mężczyzn, 6 kobiet).

Do badania włączono osoby, u których rozpoznano OZT (bóle brzucha, nudności, wymioty, ponad 3-krotne zwiększenie stężenia amylazy w surowicy). Objawy utrzymywały się nie dłużej niż przez 48 godz. Wśród chorych z lekką postacią choroby 8 miało etiologię poalkoholową, 5 – żółciopochodną, u 2 przyczyna była nieznana, tzw. idiopatyczne OZT. Spośród osób z ciężką postacią choroby 10 miało etiologię żółciopochodną, 4 – poalkoholową, a u jednej nie ustalono przyczyny.

Wiek chorych i ochotników mieścił się w przedziale 30–60 lat – mediana wieku osób z lekką postacią choroby wynosiła 53 lata, natomiast dla chorych z ciężką postacią 58 lat. Chociaż przeciętny wiek w grupie chorych z ciężkim OZT był o 5 lat większy niż w grupie osób z lekką postacią, różnicy tej nie można traktować jako znamiennej statystycznie.

Wyodrębniono III podgrupy, tj. 15 chorych z lekką postacią choroby, 15 z ciężką postacią i 10-osobową grupę kontrolną – ochotników. Kryterium włączającym do badania stanowiło stwierdzenie OZT, którego objawy utrzymywały się nie dłużej niż 48 godz. Objawami wstępnymi były: bóle brzucha, nudności, wymioty, wynik oceny stanu podmiotowego i wyniki badań laboratoryjnych (stężenie amylazy w surowicy i moczu) w obu podgrupach chorych z OZT. Kryterium przynależności do I lub II podgrupy oceniano za pomocą klasyfikacji APACHE II (od 9 pkt świadczyło o ciężkiej postaci OZT) i Ransona (od 4 pkt – o ciężkiej postaci OZT). Kryteria wykluczające obejmowały wszystkie choroby, które mogłyby zaburzyć punktację APACHE II i Ransona oraz wpływać na stężenie PMN elastazy i IL-17. Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych ochotników poddanych badaniom diagnostycznym, bez dolegliwości brzusznych, w wieku 30–60 lat, bez współistniejących chorób ujętych w kryteriach wykluczających.

Krew do wykonania testu Elisa w celu oznaczenia stężenia IL-17, elastazy i CRP pobierano bezpośrednio po przyjęciu do szpitala, 24, 48 godz. i w 6. dobie hospitalizacji. Krew na układ krzepnięcia (czas kaolinowo-kefalinowy, czas i wskaźnik protrombiny, czas trombinowy, stężenie fibrynogenu, test FDP, płytki krwi) pobierano w 1. i 6. dobie hospitalizacji. Oznaczenia dokonano w chwili przyjęcia i po 24 godz. za pomocą skali APACHE II oraz w chwili przyjęcia i po 48 godz. za pomocą klasyfikacji Ransona. Wszystkich chorych oceniano za pomocą tomograficznego wskaźnika ciężkości OZT. Pozwala on na ocenę rozległości martwicy trzustki oraz zmian w jamie brzusznej metodą obrazową.

Przebieg choroby, zdrowienie i powikłania oceniano indywidualnie w przypadku każdego chorego. Przedmiotami analizy były także stosowane leczenie (zachowawcze, chirurgiczne), powikłania i ich rodzaje, leczenie żywieniowe – żywienie dojelitowe i pozajelitowe – oraz czas pobytu w szpitalu. Stężenia IL-17 odnoszono do klinicznego przebiegu OZT u chorych (grupa chorych z ciężkim i lekkim OZT). Wyniki badań poddano analizie statystycznej.

Badania laboratoryjne

Quantikine IL-17 kit jest pełnym, 4,5-godzinnym testem ELISA do pomiaru ludzkiej IL-17 w surowicy, osoczu i kulturach komórkowych. Zawiera *Escherichia coli* rekombinowane ludzką IL-17 i przeciwciała przeciwko rekombinowanemu czynnikowi.

W celu oznaczania elastazy stosowano heterogenny test enzymatyczny (test ELISA) do specyficznego oznaczania PMN elastazy z polimorfojądrzastych leukocytów w kompleksie z inhibitorem $\alpha 1$ proteinazy w surowicy, osoczu, kulturach komórkowych, płynie wysiękowym, płynie mózgowo-rdzeniowym i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych.

Analiza statystyczna

Wyniki badań poddano analizie statystycznej, stosując nieparametryczny test Wilcoxona dla sumy rang, zwany inaczej testem U Manna Whitneya. Test ten służy weryfikacji hipotezy, wg której występuje istotna różnica między medianami badanej cechy w dwóch rozważanych grupach.

Decyzja podejmowana jest na podstawie wartości *p*. Jeżeli *p* wynosi poniżej 0,05, to między medianami występuje istotna różnica. Gdy *p* jest większe niż 0,05, to przeprowadzone badania nie dają podstaw do uznania, że między medianami występuje istotna różnica (nie oznacza to jednak, że dowiedziona została ich równość).

Hipoteza zerowa zakłada równość median. Hipoteza alternatywna stwierdza, że mediana w grupie ochotników jest mniejsza niż w grupie osób z ciężką postacią choroby. Hipotezę zerową odrzuca się na korzyść alternatywnej, gdy wartość *p* jest mniejsza niż 0,05 [18–20].

Wyniki

Badania przeprowadzono w grupie 30 chorych z OZT (20 mężczyzn, 10 kobiet) i 10 ochotników (4 mężczyzn, 6 kobiet) w wieku 30–60 lat.

Mediana czasu pobytu w szpitalu chorych z lekką postacią OZT wynosiła 8 dni (zakres 6–21 dni), a osób z ciężką postacią choroby – 9 dni (zakres 6–28 dni) (tab. I, II).

Diagnostyka obrazowa

Wszystkich chorych oceniano za pomocą tomograficznego wskaźnika ciężkości OZT. W ocenie klinicznej uwzględniono klasyfikację CTSI opartą na badaniu tomografii komputerowej jamy brzusznej. Badanie to wykonano w różnych dobach choroby w zależności od potrzeby.

Krew na układ krzepnięcia (czas kaolinowo-kefalinowy, czas i wskaźnik protrombiny, czas trombinowy, stężenie fibrynogenu, test FDP, płytki krwi) pobierano w 1. i 6. dobie hospitalizacji. Mediana czasu kaolinowo-kefalinowego w 1. dobie hospitalizacji w przypadku chorych z ciężkim OZT wynosiła odpowiednio 27,1, wskaźnika protrombiny – 89,0, wskaźnika INR – 1,45, natomiast stężenia płytek krwi – 187,0. Mediana czasu

Tabela I. Powikłania u chorych z ciężkim ostrym zapaleniem trzustki (OZT)
Table I. *Complications of patients from severe acute pancreatitis*

Powikłania u chorych z ciężkim OZT	Liczba powikłań u chorych z ciężkim OZT
torbiele	2
płyn w jamie otrzewnowej	3
płyn w jamie opłucnowej	2
martwica trzustki i tkanek okołotrzustkowych	1
ropnie	1
przetoki żółciowe	1
zgon	2

Tabela II. Powikłania u chorych z lekkim ostrym zapaleniem trzustki (OZT)
Table II. *Complications of patients from mild acute pancreatitis*

Powikłania u chorych z lekkim OZT	Liczba powikłań u chorych z lekkim OZT
torbiele	3
płyn w jamie otrzewnowej/płyn wokół trzustki	2
płyn w jamie opłucnowej	2
martwica trzustki i tkanek okołotrzustkowych	0
ropnie	1
przetoki żółciowe	0
zgon	0

kaolinowo-kefalinowego w 6. dobie hospitalizacji u chorych z ciężkim OZT kształtowała się odpowiednio na poziomie 28,1, wskaźnika protrombiny – 88,10, wskaźnika INR – 1,47, natomiast stężenia płytek krwi – 197,0. Mediana czasu kaolinowo-kefalinowego w 1. dobie hospitalizacji w przypadku chorych z lekkim OZT wynosiła odpowiednio 30,0, wskaźnika protrombiny – 88,10, wskaźnika INR – 1,18, natomiast stężenia płytek krwi – 253,0. Mediana czasu kaolinowo-kefalinowego w 6. dobie hospitalizacji u chorych z lekkim OZT kształtowała się odpowiednio na poziomie 31,9, wskaźnika protrombiny – 92,50, wskaźnika INR – 1,09, natomiast stężenia płytek krwi – 251,0. Jedynie dla wskaźnika INR zarówno w 1., jak i 6. dobie hospitalizacji uzyskano wyniki uprawniające do stwierdzenia, że średnie wartości wskaźnika INR w obu tych dobach są w grupie chorych z ciężkim OZT większe niż w grupie osób z postacią lekką. Poza tym nie stwierdzono znaczących odchyleń w układzie krzepnięcia. U chorych zmarłych nie wykazano istotnych zaburzeń w układzie krzepnięcia, zgon nie nastąpił z powodu zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (*disseminated intravascular coagulation* – DIC).

Badano stężenia CRP, elastazy i IL-17 w surowicy 15 chorych z ciężkim OZT odpowiednio w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji. Mediana stężenia CRP w 0. dobie w przypadku chorych z ciężkim OZT wynosiła 99,0, w 1. dobie – 98,0, w 2. – 98,0 oraz w 6. – 98,0. Mediana stężenia CRP w 0. dobie u chorych z lekkim OZT kształtowała się na poziomie 23,0, w 1. dobie – 74,0, w 2. – 93,0 oraz w 6. – 48,0. Zgodnie z przewidywaniami we wszystkich dobach mediana stężenia CRP była większa u chorych z ciężkim OZT, ale istotnie statystycznie tylko w 0. dobie.

Na ryc. 1., 2. przedstawiono wyniki stężeń elastazy i IL-17 w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji oznaczanych w surowicy pobranej od chorych z ciężkim OZT.

Pobrano także krew od 15 osób z postacią łagodną i podobnie jak u pozostałych (ochotników i chorych) oceniano w niej stężenia elastazy i IL-17 odpowiednio w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji.

Na ryc. 3., 4. zaprezentowano wyniki stężeń elastazy i IL-17 w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji oznaczanych w surowicy chorych z lekkim OZT.

W pobranej od 10 ochotników krwi oznaczano stężenia elastazy i IL-17 w 0., 1., 2. i 6. dobie w celu porównania ich ze stężeniami elastazy i IL-17 u chorych z łagodnym i ciężkim OZT oznaczanych w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji. Na ryc. 5., 6. zobrazowano rozkład stężeń elastazy i IL-17 w 0., 1., 2. i 6. dobie oznaczanych w surowicy pobranej od ochotników.

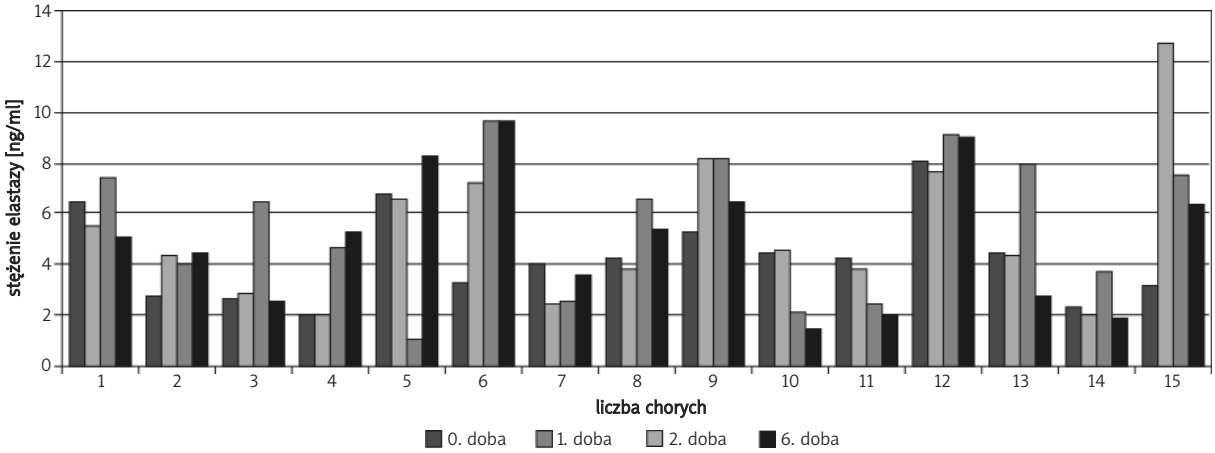
Wszystkie wyniki poddano analizie statystycznej nieparametrycznym testem Wilcoxona dla sumy rang, zwanym inaczej testem U Manna Whitneya.

Podsumowanie

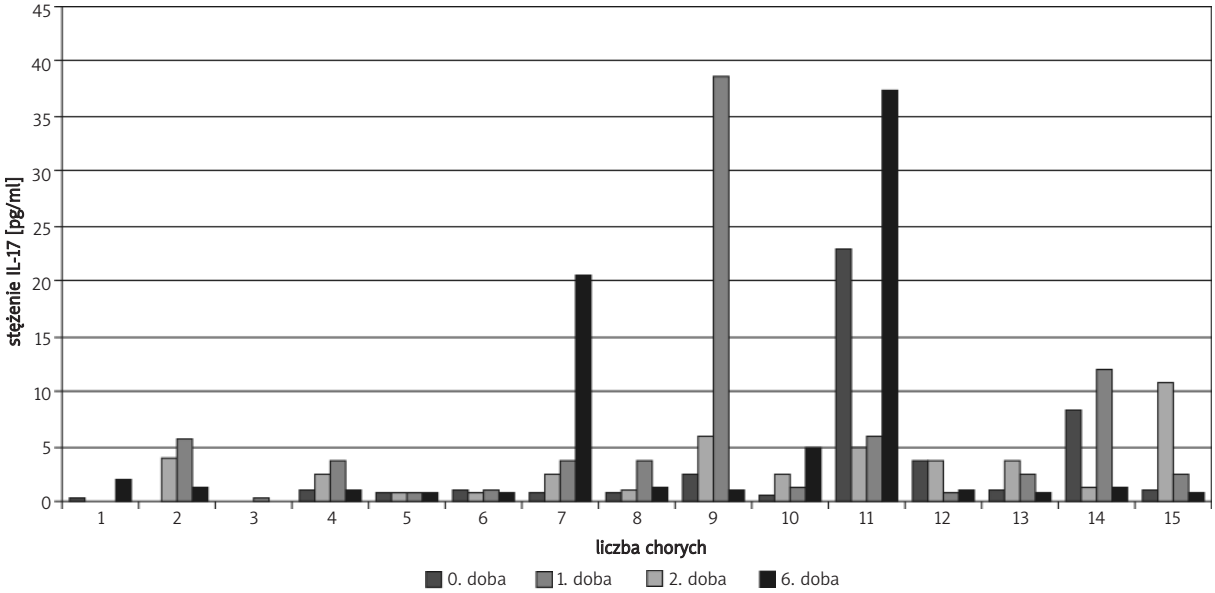
Mediana stężenia elastazy w 0. dobie w grupie chorych z ciężkim oraz lekkim OZT jest istotnie większa niż mediana stężenia elastazy w grupie ochotników. Jednocześnie nie ma podstaw, aby uznać, że występuje istotna różnica między medianami stężenia elastazy w 0. dobie w grupach chorych z ciężkim i lekkim OZT.

Średnie stężenie elastazy w 0. dobie jest w grupie ochotników mniejsze niż w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT.

Podobne wnioski można wyciągnąć dla mediany stężenia elastazy w 1. dobie w grupach chorych z ciężkim oraz lekkim OZT. Jest ona istotnie większa niż me-



Ryc. 1. Stężenie elastazy u chorych z ciężkim ostrym zapaleniem trzustki
Fig. 1. *Concentration of elastase of patients from severe acute pancreatitis*



Ryc. 2. Stężenia interleukiny 17 (IL-17) u chorych z ciężkim ostrym zapaleniem trzustki
Fig. 2. *Concentration of interleukin-17 of patients from severe acute pancreatitis*

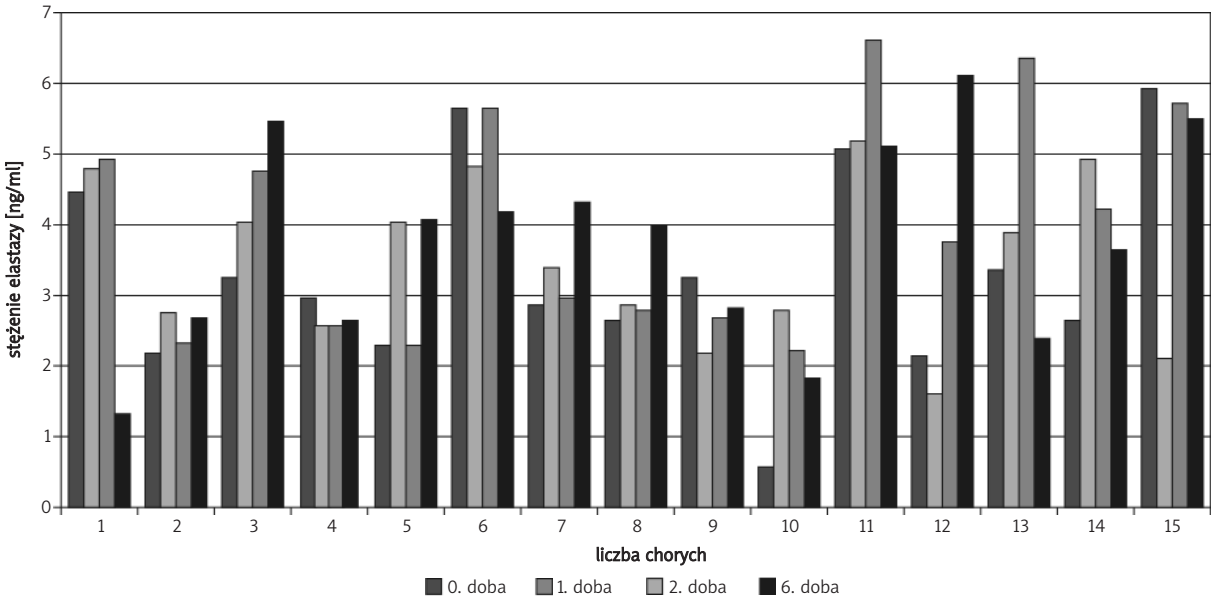
diana stężenia elastazy w grupie ochotników. Jednocześnie nie ma podstaw, aby uznać, że występuje istotna różnica między medianami stężenia elastazy w 1. dobie dla grupy chorych z ciężkim i lekkim OZT.

Średnie stężenie elastazy w 1. dobie jest w grupie ochotników mniejsze niż w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT.

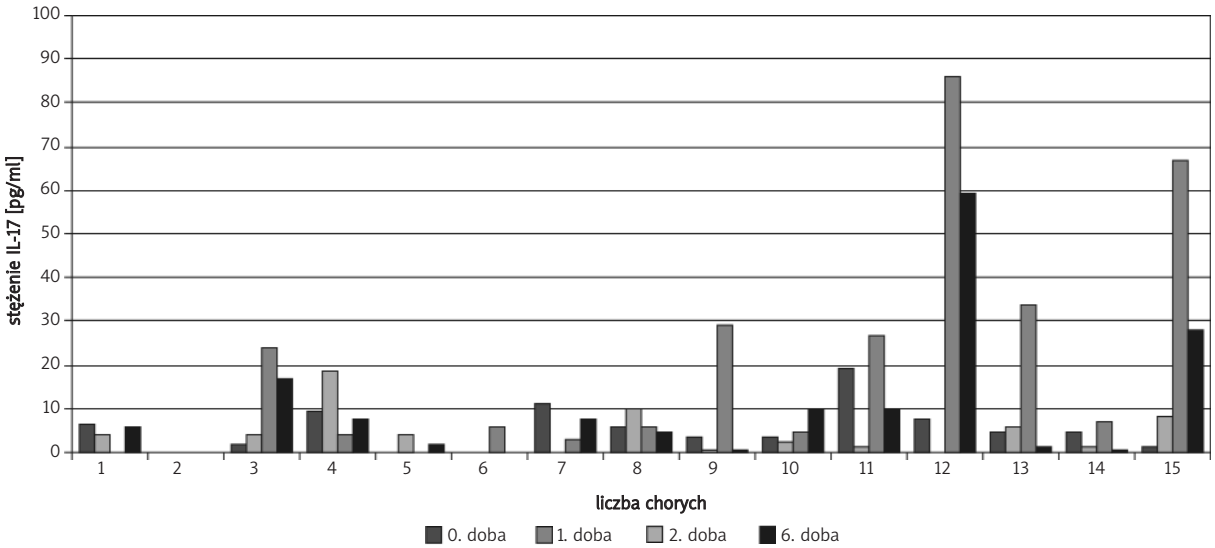
Podobne wnioski można wyciągnąć także dla mediany stężenia elastazy w 2. dobie. W grupie chorych z ciężkim OZT jest ona istotnie większa niż mediana stężenia elastazy w grupie ochotników. Jednocześnie nie ma podstaw, aby uznać, że między medianami stężenia elastazy w 2. dobie dla grupy chorych z ciężkim i lekkim OZT oraz dla grupy chorych z lekkim OZT a grupą ochotników występuje istotna różnica.

Średnie stężenie elastazy w 2. dobie jest w grupie ochotników mniejsze niż w grupie chorych z ciężką postacią OZT.

Podobne wnioski (jak dla 0. i 1. doby) można wyciągnąć dla mediany stężenia elastazy w 6. dobie. W grupie chorych z ciężkim oraz lekkim OZT jest ona istotnie większa niż mediana stężenia elastazy w grupie ochotni-



Ryc. 3. Stężenie elastazy u chorych z lekkim ostrym zapaleniem trzustki
Fig. 3. *Concentration of elastase of patients from mild acute pancreatitis*



Ryc. 4. Stężenia interleukiny 17 (IL-17) u chorych z lekkim ostrym zapaleniem trzustki
Fig. 4. *Concentration of interleukin-17 of patients from mild acute pancreatitis*

ków. Jednocześnie nie ma podstaw, aby uznać, że między medianami stężenia elastazy w 6. dobie w grupach chorych z ciężkim i lekkim OZT występuje istotna różnica.

Średnie stężenie elastazy w 6. dobie jest w grupie ochotników mniejsze niż w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT.

Mediana stężenia IL-17 w 0. dobie w grupie chorych z ciężkim oraz lekkim OZT jest istotnie większa niż mediana stężenia IL-17 w grupie ochotników. Jednocześnie mediana stężenia IL-17 w 0. dobie w grupie chorych z lekkim OZT jest istotnie większa niż mediana stężenia IL-17 w 0. dobie dla grupy chorych z ciężkim OZT.

Średnie stężenie IL-17 w 0. dobie jest w grupie ochotników mniejsze niż w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT oraz średnie stężenia IL-17 w tej

dobie są w grupie chorych z ciężkim OZT mniejsze niż w grupie chorych z lekką postacią.

Mediana stężenia IL-17 w 1. dobie w grupie chorych z ciężkim oraz lekkim OZT jest istotnie większa niż mediana stężenia IL-17 w grupie ochotników. Jednocześnie mediana stężenia IL-17 w 1. dobie w grupie chorych z lekkim OZT jest równa medianie stężenia IL-17 w 1. dobie pierwszej dla grupy chorych z ciężkim OZT.

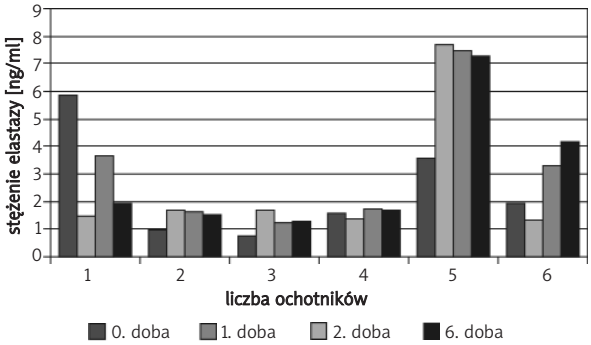
Średnie wartości IL-17 w 1. dobie są w grupie ochotników mniejsze niż w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT.

Mediana stężenia IL-17 w 2. dobie w grupie chorych z ciężkim oraz lekkim OZT jest istotnie większa niż mediana stężenia IL-17 w grupie ochotników. Jednocześnie mediana stężenia IL-17 w 2. dobie w grupie chorych z lekkim OZT jest istotnie większa niż mediana stężenia IL-17 w 2. dobie dla grupy chorych z ciężkim OZT.

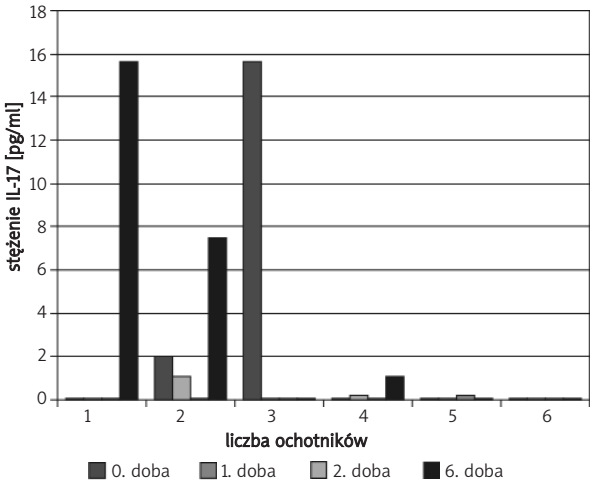
Średnie stężenia IL-17 w 2. dobie są w grupie ochotników mniejsze niż w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT oraz średnie wartości IL-17 w tej dobie są w grupie chorych z ciężkim OZT mniejsze niż w grupie chorych z lekkim OZT.

W przypadku stężenia IL-17 oznaczanego w 6. dobie w grupie chorych z ciężkim, lekkim OZT oraz w grupie ochotników przeprowadzone badania nie dają podstaw do uznania, że między medianami (między chorymi z ciężkim OZT a ochotnikami, chorymi z lekkim OZT a ochotnikami oraz chorymi z lekkim a ciężkim OZT) występuje istotna różnica.

Wyniki przeprowadzonych badań nie uprawniają do stwierdzenia, że między średnimi stężeniami IL-17 w 6. dobie w grupie ochotników oraz w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT występuje istotna różnica.



Ryc. 5. Stężenia elastazy u ochotników
Fig. 5. *Concentration of elastase in the group of volunteers*



Ryc. 6. Stężenia interleukiny 17 (IL-17) u ochotników
Fig. 6. *Concentration of interleukin-17 in the group of volunteers*

Omówienie

Ostre zapalenie trzustki jest procesem zapalnym, który może przebiegać łagodnie lub ciężko. Nadal poszukuje się parametrów laboratoryjnych, które odznaczałyby się wysoką czułością i specyficznością oraz odgrywałyby ważną rolę rokowniczą. Znalezienie takiego wskaźnika umożliwiłoby wczesne rozpoznawanie ciężkiej postaci OZT i być może intensyfikację i modyfikację leczenia już w początkowej fazie choroby – co może poprawić jego wyniki.

Powszechnie przyjęte i akceptowane skale APACHE II [21, 22] i Ransona oceniające ciężkość OZT wymagają wykonania wielu badań i w związku z tym są bardzo skomplikowane i trudne do wykorzystania w praktyce klinicznej.

Z tego powodu wydaje się zrozumiałe dalsze poszukiwanie parametru lub zespołu parametrów przydatnych w rozpoznawaniu i rokowaniu w OZT.

Jednym ze wskaźników, z którym wiązano ostatnio duże nadzieje, jest prokalcytonina – wskaźnik uogólnionego stanu zapalnego. W przeprowadzonych prospektywnie badaniach klinicznych potwierdzono dużą czułość tego parametru laboratoryjnego w wykrywaniu ciężkich postaci OZT, znacznie przewyższającą klasyfikację Ransona lub skalę APACHE II [23].

W odniesieniu do oceny czułości, swoistość tego wskaźnika potwierdzono także w badaniach klinicznych. Stwierdzono, że ustępuje ona jedynie klasyfikacji Ransona [23].

Innym wskaźnikiem stanów zapalnych okazuje się CRP. Jest on uznanym markerem o dużej czułości w przypadku stanów zapalnych o podłożu martwiczym czy bakteryjnym. Jego wadą bywa późne zwiększenie stężeń w 2. dobie od wystąpienia objawów [24], podczas gdy oznaczanie jego w 1. dobie nie ma wartości dla rokowania w OZT [25, 26].

Stwierdzono, że PMN elastaza jest jednym z czynników wywołujących martwicę trzustki. Wielu autorów uważa, że ocena stężenia elastazy we krwi chorych z OZT pozwala na wczesne rozróżnienie postaci łagodnej (obrzękowej) od ciężkiej (martwiczej) [27, 28].

Do oceny ciężkości przebiegu OZT pomocne wydaje się także badanie układu krzepnięcia. W przypadku ciężkiej postaci OZT stosunkowo często u ok. 10% dochodzi do zaburzeń tego układu, włącznie z DIC [29, 30].

Nadal poszukuje się jednak dodatkowych wskaźników ciężkości OZT odznaczających się jeszcze większą czułością i swoistością.

Z uwagi na to, że cytokiny prozapalne wydają się pełnić bardzo ważną funkcję w rozwoju OZT, być może między nimi należy poszukiwać takich parametrów.

Wielu autorów starało się znaleźć te wskaźniki [31–33]. Stwierdzili, że stężenia IL-18 w surowicy znacząco zwiększały się w każdym przypadku OZT, będąc w ścisłym powiązaniu z postacią kliniczną (ciężkością) choroby [31, 33].

W badaniu Pooran i wsp. odnotowali, że IL-6, IL-8 i czynnik martwicy nowotworów (*tumour necrosis factor* – TNF) mogą być przydatne niezależnie w różnicowaniu postaci łagodnej od wczesnej ciężkiej OZT [3, 5, 26, 34–37].

Badaniu podlegały nie tylko interleukiny prozapalne. Próbowano szukać wskaźników wczesnego rozpoznawania i rokowania w OZT, także wśród interleukin przeciwzapalnych. Zgodnie z teorią, że działaniu cytokin prozapalnych próbują się *przeciwstawić* przeciwzapalne. Inni autorzy [38] stwierdzili zależność między stężeniem IL-10 i IL-11 oznaczanych w surowicy a ciężkością przebiegu OZT, uznając, że IL-10 może być pomocnym wskaźnikiem wczesnego rokowania w OZT [38]. Żaden z powyższych parametrów nie znalazł jednak powszechnego zastosowania w rozpoznawaniu i rokowaniu w OZT.

W badaniu własnym porównywano zależność stężenia IL-17 i elastazy od postaci klinicznej OZT. Elastaza jako czynnik wczesnej oceny była odniesieniem w stosunku do IL-17. Wydawałoby się, że IL-17 powinna być cennym wskaźnikiem rozpoznania i rokowania w OZT. Wykazuje bowiem, podobnie jak inne cytokiny, plejotropowy mechanizm działania z przewagą działania prozapalnego. Jest wydzielana przez aktywne limfocyty T CD4+, które prawdopodobnie indukują aktywację makrofagów i wspomagają reakcję prozapalną podczas wczesnej fazy OZT [39]. Interleukina 17 w ludzkich trzustkowych miofibroblastach indukuje produkcję IL-8 i IL-6, które są cytokinami prozapalnymi i pobudzają miejscową reakcję zapalną w trzustce.

W piśmiennictwie [40] pojawia się coraz więcej doniesień potwierdzających rolę IL-6 i IL-8 w rozwoju procesu zapalnego [41]. Wiadomo, że IL-6 jest głównym induktorem syntezy białek ostrej fazy przez komórki wątrobowe, a zwiększenie jej stężenia wyprzedza 24–48 godz. wzrost stężenia CRP. To białko ostrej fazy, podobnie jak elastaza, jest uznanym czynnikiem rokowniczym w OZT. Z uwagi jednak na późne – w 2. dobie od wystąpienia objawów – zwiększenie stężeń CRP nie może być przydatne jako wczesny czynnik rokowniczy w OZT.

W badaniu własnym zgodnie z przewidywaniami we wszystkich dobach stężenie CRP było większe u chorych z ciężkim niż lekkim OZT. Istotna statystycznie różnica między tymi grupami ujawniła się jednak, nieoczekiwanie, tylko w 0. dobie. Oceniano także układ krzepnięcia w obu grupach chorych w 1. i 6. dobie hospitalizacji.

Jedynie dla wskaźnika INR zarówno w 1., jak i 6. dobie hospitalizacji uzyskano wyniki uprawniające do stwierdzenia, że średnie wartości wskaźnika INR w obu tych dobach są w grupie chorych z ciężkim OZT większe niż w grupie chorych z postacią lekką. W obu grupach u żadnego z chorych nie stwierdzono znaczących nieprawidłowości zarówno w 1., jak i 6. dobie hospitalizacji w układzie krzepnięcia.

Także u chorych zmarłych (śmiertelność w grupie chorych z ciężkim OZT wynosiła 13,3%, a w grupie chorych z lekkim OZT 0%) nie wykazano istotnych zaburzeń w układzie krzepnięcia, ich zgon nie nastąpił z powodu DIC.

Wszystko wskazywałoby na to, że stężenia IL-17 powinny zwiększać się w OZT i być proporcjonalne do ciężkości choroby.

Wyniki badania własnego tylko częściowo potwierdzają tę hipotezę. Stężenia IL-17 zwiększają się w sposób znamienny statystycznie w 0., 1. i 2. dobie hospitalizacji. Nie korelują jednak ze stopniem ciężkości choroby w badanych grupach. W 6. dobie hospitalizacji stężenia IL-17 nie zwiększają się natomiast w sposób znamienny statystycznie u chorych. Być może przyczyną tego zjawiska jest fakt, że większość cytokin była dotąd badana w warunkach doświadczalnych, w których do hodowli czystej populacji komórek dodawano cytokinę rekombinowaną. Cytokina ta była czasami stosowana w stężeniu niefizjologicznym. W takich warunkach trudno było ustalić prawdziwe działanie cytokin – brak kooperacji między różnymi populacjami komórek oraz oddziaływania innych cytokin. Z tego powodu w coraz częstszych badaniach klinicznych obserwuje się czasami niespodziewane efekty biologiczne działania różnych cytokin [7].

Wiele badań nad interleukinami (*in vivo*) było przeprowadzanych na modelu zwierzęcym, głównie szczurach. W doświadczeniach na zwierzętach warunki są zbliżone, jednak nie identyczne z organizmem ludzkim (np. myszy nie mają IL-8) [7]. W związku z tym, przeprowadzając te same badania u ludzi, można uzyskać nieoczekiwane wyniki. Być może tym należy tłumaczyć

brak korelacji zwiększenia stężenia IL-17 od stopnia ciężkości choroby w OZT w przeprowadzonym badaniu.

Drugim rozważanym czynnikiem wpływającym na wyniki może być plejotropia działania IL-17, która – chociaż wytwarzana jedynie przez limfocyty – może wywierać działanie na wiele różnych komórek, w różnych tkankach i narządach.

Należy zauważyć, że w OZT w badaniach przeprowadzonych na szczurach stwierdzono znamienne zwiększenie cytokin zarówno zapalnych, jak i przeciwzapalnych [42]. Nie należy więc spodziewać się aż takiego zwiększenia stężenia cytokiny prozapalnej – IL-17 – jako odpowiedzi na proces zapalny, gdyż może być ona *równoważona* przez inne cytokiny przeciwzapalne. Wzajemne złożone oddziaływania między cytokinami nie są ostatecznie wyjaśnione i prawdopodobnie tutaj należy szukać odpowiedzi na otrzymane przez autorów niniejszego artykułu wyniki badania.

PMN elastaza jest jednym z głównych czynników powodujących wystąpienie martwicy trzustki. Wielu autorów uważa [43], że pozwala ona rozróżnić postać lekką OZT (obrzękową) od ciężkiej (martwiczej). W badaniu własnym nie udało się potwierdzić tej hipotezy. Uzyskane wyniki wykazują, że ocena stężenia elastazy w surowicy może stanowić pomocny czynnik rozpoznawania choroby – różnicuje grupę chorych z ciężkim OZT od ochotników (w 0., 1., 2. i 6. dobie) oraz chorych z lekkim OZT od ochotników (w 0., 1. i 6.). Nie może natomiast służyć do oceny stopnia ciężkości choroby – brak różnic znamiennych statystycznie między chorymi z lekkim i ciężkim OZT (w 0., 1., 2. i 6. dobie hospitalizacji).

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej można wnioskować, że jedynymi różnicami istotnymi statystycznie są różnice między medianami stężenia elastazy w 0., 1., 2. i 6. dobie chorych z ciężkim OZT a ochotników oraz różnice stężenia elastazy w 0., 1. i 6. dobie między chorymi z lekkim OZT a ochotnikami. Niektórzy autorzy [28] uważają, że ocena stężenia elastazy we krwi chorych z OZT pozwala na różnicowanie postaci łagodnej od ciężkiej.

W badaniach własnych nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie w przypadku stężenia elastazy między chorymi z ciężkim i lekkim zapaleniem trzustki, jednak odnotowano zwiększenie stężenia elastazy w grupach chorych z ciężką i lekką postacią OZT w stosunku do stężenia elastazy u ochotników.

Stężenia IL-17 zwiększają się w sposób znamienny statystycznie w 0., 1. i 2. dobie hospitalizacji, jednak nie korelują ze stopniem ciężkości choroby w przebadanych przez autorów grupach. W 6. dobie hospitalizacji stężenia IL-17 nie zwiększają się w sposób znamienny statystycznie u chorych.

Stężenie elastazy w surowicy może stanowić pomocny czynnik rozpoznania choroby – różnicuje grupę chorych z ciężkim OZT od ochotników oraz grupę chorych z lekkim OZT od ochotników, czyli odnotowuje różnicę między grupami zdrowych a chorych. Wykazuje także z pewnym prawdopodobieństwem, że u chorych z OZT przebieg może być ciężki.

Wnioski

Ocena stężeń IL-17 w surowicy nie może służyć do określania ciężkości OZT, natomiast może być pomocna w rozpoznawaniu OZT.

Piśmiennictwo

1. Heinrich S, Schäfer M, Rousson V, Clavien PA. Evidence-based treatment of acute pancreatitis. A look at established paradigms. Annal Surg 2006; 243: 154-68.
2. Choroby wewnętrzne. Szczeklik A (red.). Medycyna Praktyczna, Kraków 2005; 858-66.
3. Gürleyik G, Cirpici OZ, Aktekin A, Sag˘ lam A. The value of Ranson and APACHE II scoring systems, and serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein in the early diagnosis of the severity of acute pancreatitis. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg 2004; 10: 83-8.
4. Taylor SL, Morgan DL, Denson KD i wsp. A comparison of the Ranson, Glasgow, and APACHE II scoring systems to a multiple organ system score in predicting patient outcome in pancreatitis. Am J Surg 2005; 189: 219-22.
5. Gürleyik G, Emir S, Kiliçoglu G i wsp. Computed tomography severity index, APACHE II score, and serum CRP concentration for predicting the severity of acute pancreatitis. JOP 2005; 6: 562-7.
6. Leung TK, Lee CM, Lin SY i wsp. Balthazar computed tomography severity index is superior to Ranson criteria and APACHE II scoring system in predicting acute pancreatitis outcome. World J Gastroenterol 2005; 11: 6049-52.
7. Immunologia. Gołąb J, Jakóbisiak M, Lasek W (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005; 198-223.
8. Herold G. Choroby wewnętrzne. PZWL Warszawa, 2002; 2-3.
9. Kawaguchi M, Takahashi D, Hizawa N i wsp. IL-17F sequence wariant (His161Arg) is associated with protection against astma and antagonizes wild-type IL-17F activity. J Allergy Clin Immunol 2006; 4: 795-801.
10. Barczyk A, Pierzchała W, Sozańska E. Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine. Respir Med 2003; 97: 726-33.
11. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR i wsp. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. Nat Immunol 2005; 11: 1123-2.
12. Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23/IL-17 axis in inflammation. J Clin Invest 2006; 116: 1218-22.
13. Tang JL, Subbotin VM, Antonysamy MA i wsp. Interleukin-17 antagonism inhibits acute but not chronic vascular rejection. Transplantation 2001; 72: 348-50.

14. Pongcharoen S, Somran J, Sritippayawan S i wsp. Interleukin 17 expression in the human placenta. Placenta 2007; 28: 59-63.
15. Hofstetter HH, Lühder F, Toyka KV, Gold R. IL-17 production by thymocytes upon CD3 stimulation and costimulation with microbial factors. Cytokine 2006; 34: 184-97.
16. Shen F, Hu Z, Goswami J, Gaffen SL. Identification of common transcriptional regulatory elements in interleukin-17 target genes. J Biol Chem 2006; 281: 24138-48.
17. Shimada M, Andoh A, Hata K i wsp. IL-6 secretion by human pancreatic periacinar myofibroblast in response to inflammatory mediators. J Immunol 2002; 168: 861-8.
18. Aczel AD. Statystyka w zarządzaniu. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000; 388-455.
19. Jóźwiak J, Podgórski J. Statystyka od podstaw. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa 1997; 331-47.
20. Koronacki J, Mielniczuk J. Statystyka dla studentów kierunków techniczych i przyrodniczych. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2001; 319-42.
21. Lankisch PG, Warnecke B, Bruns D i wsp. The APACHE II score is unreliable to diagnose necrotizing pancreatitis on admission to hospital. Pancreas 2002; 24: 217-22.
22. Toouli J, Brooke-Smith M, Bassi C i wsp. Guidelines for the management of acute pancreatitis. J Gastroenterol Hepatol 2002; 17 (Suppl): S15-39.
23. Kylänpää-Bäck ML, Takala A, Kemppainen E i wsp. Procalcitonin strip test in the early detection of severe acute pancreatitis. Br J Surg 2001; 88: 222-7.
24. Müller CA, Uhl W, Printzen G i wsp. Role of procalcitonin and granulocyte colony stimulating factor in the early prediction of infected necrosis in severe acute pancreatitis. Gut 2000; 46: 233-8.
25. Mummery R, Rider C. Characterization of the heparin-binding properties of IL-6. J Immunol 2000; 165: 5671-9.
26. Papachristou GI, Whitcomb DC. Predictors of severity and necrosis in acute pancreatitis. Gastroenterol Clin North Am 2004; 4: 871-90.
27. Gross V, Leser HG, Heinisch A, Schölmerich J. Inflammatory mediators and cytokines-new aspects of the pathophysiology and assessment of severity of acute pancreatitis? Hepatogastroenteroly 1993; 40: 522-30.
28. Kiriyama S, Kumada T, Tanikawa M. Recent advances in biochemical diagnosis and assassment of severity in acute pancreatitis. Nippon Rinsho 2004; 62: 2035-9.
29. Gastroenterologia i hepatologia kliniczna. Konturek S (red.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2001; 519-22.
30. Takaya H, Andoh A, Makino J i wsp. Interleukin-17 stimulates chemokine (interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1) secretion in human pancreatic periacinar myofibroblast. Scand J Gastroenterol 2002; 37: 239-45.
31. Endo S, Inoue Y, Fujino Y i wsp. Interleukin 18 levels reflect the severity of acute pancreatitis. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 2001; 5-6: 285-91.
32. Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T i wsp. Significant elevation of serum interleukin-18 levels in patients with acute pancreatitis. J Gastroenterol 2006; 41: 158-65.
33. Wereszczyńska-Siemiątkowska U, Mroczko B, Siemiątkowski A. Serum profiles of interleukin-18 in different severity forms of human acute pancreatitis. Scand J Gastroenterol 2002; 37: 1097-102.
34. Koussoulas V, Tzivras M, Karagianni V i wsp. Monocytes in systematic inflammatory response syndrome: Differences between sepsis and acute pancreatitis. World J Gastroenterol 2006; 12: 6711-4.
35. Papachristou GI, Whitcomb DC. Inflammatory markers of disease severity in acute pancreatitis. Clin Lab Med 2005; 25: 17-37.
36. Pfützer RH, Whitcomb DC. Acute pancreatitis. Curr Opin Gastroenterol 2000; 16: 410-3.
37. Stimac D, Fisić E, Milić S i wsp. Prognostic values of IL-6, IL-8, and IL-10 in acute pancreatitis. J Clin Gastroenterol 2006; 40: 209-12.
38. Chen CC, Wang SS, Lu RH i wsp. Serum interlekin 10 and interleukin 11 in patients with acute pancreatitis. Gut 1999; 45: 895-9.
39. Uehara S, Gothoh K, Handa H i wsp. Immune function in patients with acute pancreatitis. J Gastroenterol Hepatol 2003; 18: 363-70.
40. Hata K, Andoh A, Shimada M i wsp. IL-17 stimulates inflammatory responses via NF-kappaB and MAP kinase pathways in human colonic myofibroblasts. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2002; 282: G1035-44.
41. Pooran N, Indaram A, Singh P, Bank S. Cytokines (IL-6, IL-8, TNF): early and reliable predictors of severe acute pancreatitis. J Clin Gastroenterol 2003; 37: 263-6.
42. Chen X, Wu H, Huang X, Wu X. The alteration of inflammatory cytokine during acute pancreatitis. Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao 2002; 33: 238-40.
43. Domínguez-Mun~oz JE, Villanueva A, Larin~o J i wsp. Accuracy of plasma levels of polymorphonuclear elastaze as early prognostic marker of acute pancreatitis in routine clinical conditions. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006; 18: 79-83.