

Beata Kuśnierz-Cabala¹
Anna Gurda-Duda²
Józefa Panek³
Bogdan Solnica¹
Paulina Dumnicka⁴
Jan Kulig²

Ocena przydatności diagnostycznej oznaczeń amylazy, lipazy i elastazy trzustkowej (E1) u chorych z ostrym zapaleniem trzustki

Evaluation of diagnostic utility of serum amylase, lipase and pancreatic elastase 1 (E1) in patients with acute pancreatitis

¹Zakład Diagnostyki Katedra Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Kierownik Zakładu Diagnostyki:
Dr hab. n. med. Bogdan Solnica

²I Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

³II Katedra i Klinika Chirurgii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

⁴Zakład Diagnostyki Medycznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Słowa kluczowe:

elastaza trzustkowa 1
ostre zapalenie trzustki
enzymy trzustkowe

Key words:

pancreatic elastase 1
acute pancreatitis
pancreatic enzymes

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

Badanie sfinansowano częściowo z programu badań statutowych nr K/ZDS/001519 UJ CM.

Adres do korespondencji:
Dr Beata Kuśnierz-Cabala
Zakład Diagnostyki Katedra Biochemii Klinicznej
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Ul. Kopernika 15A, 31-501 Kraków
Tel./fax: 012 4248365; 012 4248366
email: mbkusnie@cyf-kr.edu.pl

Możliwie wczesne rozpoznanie i prognozowanie rozwoju ostrego zapalenia trzustki (OZT) pozostaje ważnym problemem klinicznym. Celem badania była ocena użyteczności diagnostycznej amylazy, lipazy i elastazy trzustkowej 1 (E1) w surowicy u chorych z OZT. Grupę badaną stanowiło 40 chorych z OZT leczonych w I i II Klinice Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Badania laboratoryjne obejmujące oznaczanie aktywności amylazy w surowicy i moczu oraz lipazy w surowicy wykonywane były w Zakładzie Diagnostyki Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w ciągu pierwszych 12 godzin od przyjęcia do leczenia OZT, a następnie w 3 dobie hospitalizacji. Oznaczanie elastazy trzustkowej 1 (E1) przeprowadzono w tych samych punktach czasowych wykorzystując technikę immunoenzymatyczną ELISA oraz zestaw odczynnikowy ScheBo® Pancreatic Elastase 1 ELISA Serum Test (Giessen, Germany). U chorych z ciężką postacią OZT wzrost aktywności amylazy w surowicy w stosunku do chorych z łagodniejszą postacią był o ponad 1,5-krotnie większy w 1-szej i 2,5-krotnie większy w 3-ciej dobie badania ($p=0,02$); wzrost amylazy w moczu utrzymywał się na poziomie 2-krotnie wyższym w obu punktach czasowych ($p<0,05$), natomiast lipazy pozostawał odpowiednio 1,6 i 2-krotnie większy ($p<0,05$). Wykazano wzrost stężenia E1 w 1-szej oraz 3-ciej dobie od momentu rozpoznania OZT, nie wykazano jednak statystycznie znamiennych różnic stężeń tego parametru w surowicy pomiędzy chorymi o łagodnym i ciężkim przebiegu schorzenia. Oznaczanie E1 w surowicy u chorych z OZT cechuje ograniczona przydatność tak w rozpoznawaniu, jak w przewidywaniu ciężkości przebiegu choroby.

Wstęp

Ostre zapalenie trzustki (OZT) stanowi nadal poważny problem terapeutyczny, w związku z trudnym do przewidzenia kierunkiem rozwoju schorzenia, które w ciężkich postaciach klinicznych obarczone jest 20-40% śmiertelnością [1,2]. Techniki obrazowe (ultrasonografia, tomografia komputerowa) znacznie ułatwiły diagnostykę OZT, jednak w opi-

Early diagnosis and prognosis of acute pancreatitis (AP) is still an important clinical problem. The aim of this study was to evaluate the diagnostic utility of amylase and lipase activities as well as pancreatic elastase 1 (E1) serum concentration in patients with AP. The studied group consisted of 40 patients with established diagnosis of AP, hospitalized in the I-st and II-nd Departments of General and Gastrointestinal Surgery, Jagiellonian University Medical College in Krakow. Routine laboratory tests such as amylase activities determined both in serum and in urine and lipase serum activity were performed in the Diagnostic Department of University Hospital in Krakow during the first 12 hours and subsequently on day 3 after admission to hospital. Serum concentrations of E1 were determined with immunoenzymatic ELISA ScheBo® Pancreatic Elastase 1 (Gissen, Germany) in the samples taken together with the routine ones. In patients with the severe form of AP, amylase activities in serum were 1,5 times higher on day 1 and 2,5 times on day 3 then in patients with mild AP ($p<0,05$). Urine amylase activity in severe AP was about 2 times greater on both the days studied ($p<0,05$) and lipase activity in serum was increased 1,6 and 2 times on day 1 and 3, respectively ($p<0,05$), comparing to the mild form. In AP patients, we observed the increase in E1 concentration on day 1 and day 3 from admission to hospital, simultaneously we did not observe any statistical significant differences between E1 concentrations measured in patients with severe and mild forms of AP. We may conclude that the diagnostic usefulness of serum E1 concentrations is limited both in the diagnosis and in the prediction of the severity of AP.

nii klinicystów, w wyjątkowych przypadkach wynik tych badań jest niejasny i wymaga przeprowadzenia dodatkowych procedur diagnostycznych.

Zgodnie z wytycznymi American College of Gastroenterology [3], OZT rozpoznawane jest po stwierdzeniu dwóch spośród trzech kryteriów, do których zaliczany jest: charakterystyczny ból w nadbrzuszu, co najmniej 3-krotny wzrost aktywności lipazy lub amylazy oraz widocz-

ne w badaniu tomografii komputerowej (CT) zmiany typowe dla OZT [2-5]. Co więcej obraz zmian spostrzeganych w CT pozwala prognozować przebieg choroby [5]. Badanie CT wykonywane wcześniej wskazane jest szczególnie u tych chorych, u których aktywność amylazy i lipazy nie jest podwyższona. Według niektórych doniesień taka sytuacja może dotyczyć nawet 40% chorych i najczęściej ma miejsce przy współistniejącej hiperlipidemi [6-9].

Oprócz lipazy i amylazy, zmieniona zapalnie trzustka uwalnia do krwiobiegu inne enzymy takie jak: fosfolipaza A2, karboksypeptydazy, tripsynogen, czy elastazę trzustkową 1 (E1) [1,10]. Obiecujące dla wczesnego rozpoznania ciężkiej postaci schorzenia wydaje się być oznaczenie TAP (Trypsinogen Activation Peptide) oraz CAPAP (Carboxypeptidase B Activation Peptide) w surowicy i tripsynogenu-2 w moczu [4,9-12].

Elastaza trzustkowa 1 (E1) jest karboksyendopeptydazą zaliczaną do grupy proteaz serynowych o masie cząsteczkowej 26 kDa, syntetyzowaną w obrębie komórek pęcherzykowych trzustki w postaci preproelastazy. Po przekształceniu do proelastazy zmagazynowana zostaje w postaci zymogenu, który może w warunkach fizjologicznych ulegać aktywacji do elastazy pod wpływem działania tripsynogenu w dwunastnicy. E1 stanowi ok. 6% puli wszystkich enzymów trzustkowych [13]. Ponadto okres połowicznego jej zaniku (T1/2) we krwi jest dłuższy w porównaniu do amylazy i lipazy. Jednak wzrost jej poziomu w OZT pojawia się stosunkowo późno, po 3-4 dniach od początku choroby [1]. Badania Malferthera i wsp. [14] wskazują na 100% czułość oraz 96% swoistość E1 w rozpoznawaniu OZT przy zastosowaniu punktu odcięcia na poziomie 2-krotnego wzrostu aktywności E1 w porównaniu do zdrowych ochotników [14].

Celem badania była ocena charakterystyki diagnostycznej oznaczeń amylazy, lipazy i elastazy trzustkowej 1 w surowicy u chorych z OZT w 1 i 3-ciej dobie od momentu rozpoznania choroby.

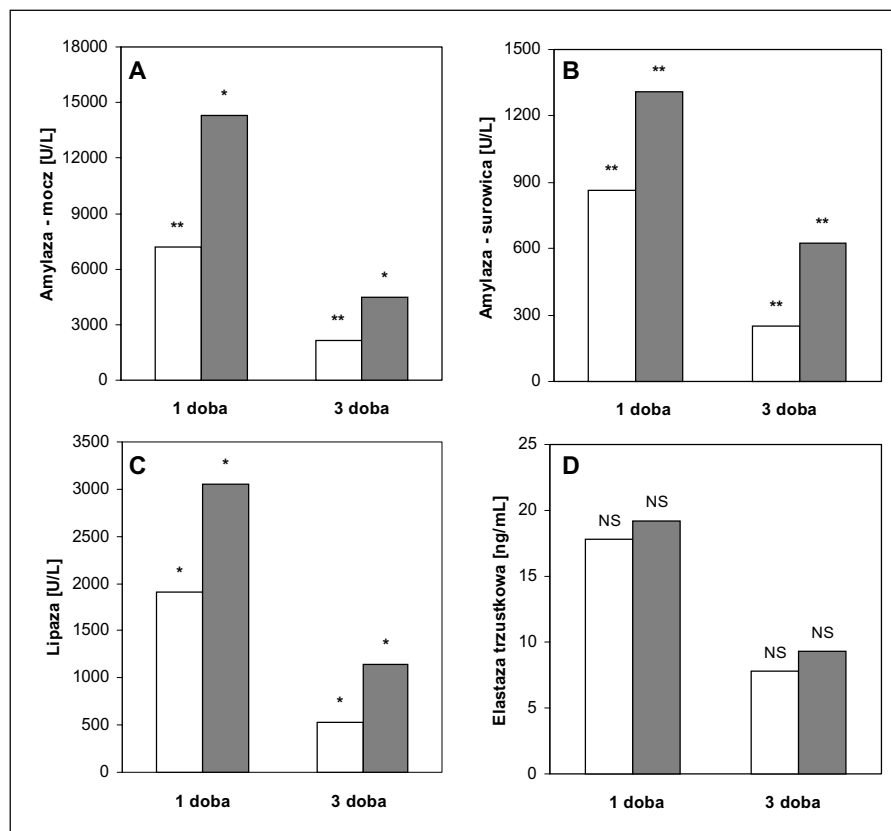
Materiał i metodyka

Grupę badaną stanowiło 40 chorych z OZT hospitalizowanych i leczonych w I i II Klinice Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, w przedziale wiekowym od 23 do 87 lat (średnia: $46,6 \pm 13,4$ lat). Wśród bada-

Tabela 1
Charakterystyka badanej grupy pod względem wieku i płci.

Grupa badana	n	K (n%)	M (n%)	Wiek (lata) Średnia \pm SD
MAP	28	14 (50)	14 (50)	$51,8 \pm 15,3$
SAP	12	2 (16,6)	10 (83,3)	$42,1 \pm 11,5$

MAP - łagodna postać ostrego zapalenia trzustki; SAP - ciężka postać ostrego zapalenia trzustki; n - liczba chorych; K- kobiety; M - mężczyźni



Rycina 1

Porównanie średnich wartości wybranych enzymów trzustkowych: (A) amylaza w moczu; (B) amylaza w surowicy; (C) lipaza w surowicy; (D) elastaza trzustkowa E1 w surowicy oznaczonych u chorych z ostrym zapaleniem trzustki (OZT) w 1 i 3 dobie obserwacji.

NS- brak znamienności statystycznej; * $< 0,05$; ** $< 0,01$; MAP - łagodna postać OZT; SAP - ciężka postać OZT

nych było 16 kobiet (40%) w wieku od 23 do 87 lat (średnia: $53,5 \pm 16,0$ lat) oraz 24 mężczyzn (60%) w przedziale pomiędzy 23 i 71 rokiem życia (średnia: $45,8 \pm 13,4$ lat). Rozpoznanie OZT stawiano w oparciu o występowanie typowych objawów klinicznych OZT (tj. ból w nadbrzuszu, nudności i/lub wymioty), co najmniej 3-krotny wzrost aktywności enzymów trzustkowych (amylazy, lipazy) we krwi i było uzupełnione badaniem ultrasonograficznym, czy tomografią komputerową. Badanie ultrasonograficzne było prowadzone u wszystkich chorych w każdym dniu hospitalizacji.

Stopień ciężkości schorzenia definiowano zgodnie z kryteriami Atlanta zmodyfikowanymi przez Working Group Classification w 2008 r. [15,16]. Ostre zapalenie trzustki o ciężkim przebiegu (Severe Acute Pancreatitis - SAP) rozpo-

znawano wtedy, gdy uogólnionemu procesowi zapalnemu SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) towarzyszyły powikłania miejscowe (martwica, torbiel trzustki, ropień trzustki) oraz i/lub systemowe w postaci rozwoju niewydolności wielonarządowej (MODS) [15,16]. Przypadki zachorowań związane z minimalnym uszkodzeniem narządu, ulegające w dalszym jego etapie samoo ograniczeniu określano jako postać łagodną OZT (MAP - Mild Acute Pancreatitis) [15,16].

W oparciu o obraz kliniczny i morfologiczny trzustki, chorych podzielono na 2 grupy: o łagodnym przebiegu klinicznym (MAP) liczącą 28 chorych oraz 12 leczonych o ciężkim przebiegu OZT (SAP). W grupie z klinicznie ciężkim OZT u 3 chorych (25%) stwierdzono torbiel trzustki, u 2 (16,6%) ropień trzustki,

Tabela II
Charakterystyka chorych z ostrym zapaleniem trzustki ze względu na czynniki etiologiczne.

Grupa badana	Czynniki etiologiczne					
	Kamiczna n (%)	Alkoholowa n (%)	Błąd dietetyczny n (%)	Hipercholesterolemia n (%)	Idiopatyczna n (%)	Razem n (%)
MAP	13 (46,4)	5 (17,8)	2 (7,14)	2 (7,14)	6 (21,4)	28 (70%)
SAP	3 (25,0)	5 (41,6)	1 (8,3)	---	3 (25,0)	12 (30%)

MAP - łagodna postać ostrego zapalenia trzustki; SAP- ciężka postać ostrego zapalenia trzustki; n - liczba przypadków

Tabela III
Wstępne wyniki badania ultrasonograficznego jamy brzusznej przeprowadzone u chorych zakwalifikowanych jako łagodna postać OZT.

Zmiany zarejestrowane w obrazie USG	n	%
Brak zmian	7	25,0
Obrzęk trzustki	13	46,4
Obrzęk trzustki plus zbiornik płynowy	5	17,8
Torbiel trzustki	1	3,6
Zbiornik płynowy	2	7,2
Martwica trzustki	-	-

n- liczba pacjentów; USG - badanie ultrasonograficzne

Tabela IV
Porównanie wartości średnich wybranych enzymów trzustkowych u chorych z ostrym zapaleniem trzustki w 1-szej i 3-ciej dobie hospitalizacji.

Parameter badany	Doba badania	Postać OZT	Średnia ±SD	Min-max	p
Amylaza (surowica) [U/L]	1	MAP	864,6±1023,67	44-4522,0	0,02
		SAP	1309,6±546,1	435,0-2078,0	
	3	MAP	249,6±297,2	59,0-1233,0	0,02
		SAP	623,6±403,0	161,0-1142,0	
Amylaza (mocz) [U/L]	1	MAP	7220,4±10184,5	303,0-37440,0	0,01
		SAP	14296,5±11878,2	1120,0-32494,0	
	3	MAP	2154,3±3889,0	43,0-13255,0	0,05
		SAP	4501,8±3889,5	983,0-9730,0	
Lipaza [U/L]	1	MAP	1915,8±1848,4	300,0-6090,0	0,05
		SAP	3084,0±3911,6	631,0-10059,9	
	3	MAP	534,9±443,3	52,0-1355,0	0,05
		SAP	1137,6±1248,4	71,0-3220,0	
Elastaza trzustkowa E1 [ng/mL]	1	MAP	17,85±16,80	0,37-69,11	NS
		SAP	19,17±11,85	7,87-46,59	
	3	MAP	7,82±6,53	0,21-25,40	NS
		SAP	9,33±10,29	1,34-31,08	

MAP - łagodna postać ostrego zapalenia trzustki; SAP - ciężka postać ostrego zapalenia trzustki; NS- brak znaczącości statystycznej

a w 7 przypadkach martwicę miększu gruczołu. MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome) wystąpił u 4 z nich.

Charakterystykę obu grup chorych ze względu na czynniki etiologiczne OZT zamieszczono w tabeli II. Wyniki badania ultrasonograficznego jamy brzusznej przeprowadzone u chorych zakwalifikowanych retrospektywnie do grupy o łagodnym przebiegu OZT przedstawiono w tabeli III. Chorem z etiologią żółciopochodną OZT w pierwszych 24 h lecze-

nia wykonywano ERCP (cholangiopancreatografia wsteczna endoskopowa) ze sfinkterotomią. Operowano 4 (33,3%) leczonych z grupy o ciężkim przebiegu schorzenia, z czego u 3 (25%) wykonano nekrektomię i „open abdomen”, a u 1 pacjenta (8,33%) drenaż przepływowy.

Badania laboratoryjne wykonywane były w Zakładzie Diagnostyki Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w ciągu pierwszych 12 godzin od przyjęcia do leczenia OZT, a następnie w 3 dobie ho-

spitalizacji. Materiał wykorzystywany do badania pozyskiwano od pacjentów w ramach rutynowej kontroli stanu chorego, tak aby prowadzone obserwacje nie pociągały za sobą niedogodności i obciążeń, jakie mogłyby wynikać z dodatkowego pobierania krwi. Krew pobierana była przez nakłucie żyły łokciowej z wykorzystaniem systemu próżniowego do pobrania firmy Sarstead, a następnie po 30 minutach, krew wirowano przez co najmniej 10 minut z prędkością 4000 obr./min. Uzyskana w ten sposób surowica była następnie wykorzystywana do badań zleconych przez lekarza prowadzącego (w tym amylaza i lipaza), natomiast część surowicy była porcjowana i zamrożona w temp. -70°C do czasu zebrania pełnej serii próbek (oznaczanie E1).

Oznaczanie elastazy trzustkowej 1 (E1) przeprowadzono wykorzystując technikę immunoenzymatyczną ELISA oraz zestaw odczynnikowy ScheBo® Pancreatic Elastase 1 ELISA Serum Test (Giessen, Germany). Ilościowe oznaczenie elastazy trzustkowej 1 w surowicy oparte jest na metodzie kanapkowej z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko ludzkiej elastazie trzustkowej 1. Zakres wartości stężeń standardów mieścił się od 0,5 ng/mL do 20,0 ng/mL, stężenia poniżej najniższego standardu określano jako <0,5 ng/mL. Współczynniki zmienności dla precyzji wewnątrz serii i między seriami wynosiły odpowiednio: 7,1% oraz 7,2%. Absorbancję mierzono przy długości fali 405 nm (względem fali referencyjnej 492 nm), z zastosowaniem czytnika do mikropłytek ELX 808, firmy BIOTEK Instruments, Inc., Vermont, USA. Wartości stężeń E1 wyliczano z krzywej kalibracyjnej sporządzonej w oparciu o analizę stężeń 4 standardów. Zakres wartości referencyjnych dla E1 mieścił się w zakresie od 0,5 do 3,5 ng/mL.

W ramach rutynowych badań oznaczano aktywność amylazy w surowicy i w moczu oraz lipazy w surowicy, wykorzystując w przypadku amylazy automatyczny analizator biochemiczny Modular P Clinical Analyzer (Roche Diagnostics,

Mannheim, Niemcy). Aktywność amylazy oznaczano przy użyciu metody EPS (temp. 37°C), zakres wartości prawidłowych w surowicy wynosił od 62 do 220 U/L, natomiast w moczu do 1000 U/L. Do pomiaru aktywności lipazy wykorzystano metodę kinetyczną z diacetynazą/kinazą glicerolową/oksydazą glicerofosforanową, zakres wartości referencyjnych mieścił się od 23-300 U/L, natomiast pomiar przeprowadzono na aparacie Vitros Fusion FS 5.1 firmy Ortho Clinical Diagnostics Johnson&Johnson (USA).

Przeprowadzone badania posiadały wymaganą zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego. Wyniki uzyskane u poszczególnych chorych do realizacji celów niniejszej pracy zostały przyporządkowane przypadkowym numerom i nie mogą stanowić podstawy do identyfikacji osób.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną rozpoczęto od oceny normalności rozkładów wszystkich parametrów i przeprowadzono ją przy pomocy testu Kormogolowa-Smirnowa. Ze względu na niesymetryczny rozkład danych, do porównania dwóch grup pacjentów (łagodna i ciężka postać) wykorzystano test U Manna-Whitney'a, natomiast do oceny zależności pomiędzy wybranymi parametrami wyliczono współczynnik R Spearmana. Za znamienne statystycznie uznawano różnice na poziomie istotności $p < 0,05$. Do oszacowania wartości diagnostycznej wybranych enzymów trzustkowych wykorzystano analizę krzywych ROC, natomiast punkty odcięcia wyznaczono w oparciu o założenie, o co najmniej 3-krotnym wzroście aktywności enzymów w chwili rozpoznania OZT (amylaza, lipaza) oraz ustaleniu optymalnych wartości czułości i swoistości diagnostycznej. W celu uzupełnienia charakterystyki diagnostycznej ocenianych enzymów wyliczono ilorazy prawdopodobieństwa (LR+, LR-), określane również wskaźnikami wiarygodności oraz wartości NND (number needed to diagnose) - liczby pacjentów, u których należy przeprowadzić dany test, aby na jego podstawie móc rozpoznać OZT u jednego. Za istotny statystycznie przyjmowano poziom $p < 0,05$. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego Statistica 9.0 (Statsoft Inc. Tulsa, USA) oraz StatsDirect 1.7.3 (StatsDirect Ltd., Cambridge, England).

Wyniki

Średni czas hospitalizacji chorych z

Tabela V

Wartość diagnostyczna wybranych enzymów trzustkowych u chorych z ostrym zapaleniem trzustki.

Parametr badany	Doba badania	Punkt odcięcia	Czułość diagnostyczna %	Swoistość diagnostyczna %	LR(+)	LR(-)	NND
Amylaza (surowica) [U/L]	1	816,0	75	65	2,14	0,38	2,50
	3	214,0	66,7	68,8	2,13	0,48	2,80
Amylaza (mocz) [U/L]	1	3932,0	75	65	2,13	0,39	2,50
	3	1143,0	80	78,6	3,73	0,25	1,70
Lipaza [U/L]	1	900,0	75	50	1,50	0,50	4,0
	3	779,0	60	72,7	2,20	0,55	3,0

LR(+) - likelihood ratio positive; LR(-) - likelihood ratio negative; NND - number needed to diagnose

Tabela VI

Średnie wartości pomiarów wybranych enzymów trzustkowych u chorych z kamiczą i niekamiczą etiologią OZT w 1 i 3 dobie hospitalizacji.

Parametr badany	Doba badania	Etiologia kamicza	Etiologia niekamicza	Etiologia kamicza	Etiologia niekamicza	p
		Średnia ± SD		min - max		
Elastaza trzustkowa E1 [ng/mL]	1	14,5 ± 9,9	21,8 ± 19,0	1,08-39,5	0,37-69,1	NS
	3	5,39 ± 5,24	11,03 ± 8,72	0,21-16,2	1,34-31,08	$p < 0,01$
Amylaza (surowica) [U/L]	1	1262,2 ± 1103,6	757,3 ± 693,8	77,0-4522,0	44,0-2078,0	$p < 0,05$
	3	292,6 ± 421,2	401,1 ± 274,6	59,0-1233,0	116,0-970,0	NS
Amylaza (mocz) [U/L]	1	12648,2 ± 14168	6564,7 ± 6327,0	303,0-37440,0	1040,0-17890,0	$p < 0,05$
	3	2178,4 ± 3018,4	2086,4 ± 2976,3	168,0-8620,0	43,0-9730,0	NS
Lipaza [U/L]	1	3138,8 ± 3174,4	1675,4 ± 2257,7	300,0-10059,0	503,0 - 8700,0	$p < 0,05$
	3	578,1 ± 528,7	818,6 ± 957,6	52,0-1355,0	71,0-3220,0	NS

NS- brak znamienności statystycznej;

łagodną postacią OZT wynosił $6,8 \pm 1,7$ dni (5,0-10,0), natomiast u chorych z ciężką formą był on znacznie dłuższy i wynosił $36,6 \pm 47,1$ dni (1,0-176,0).

Porównano średnie wartości stężeń E1 w surowicy chorych w zależności od etiologii schorzenia (kamicza i niekamicza) oraz klinicznej postaci choroby (łagodna i ciężka). Stężenia E1 zarówno w 1-szej ($21,8 \pm 19,0$ vs $14,5 \pm 9,9$; NS), jak i 3-ciej ($11,03 \pm 8,72$ vs $5,39 \pm 5,24$; $p < 0,01$) dobie od przyjęcia do leczenia schorzenia, były one niższe u chorych z żółciopochodnym OZT (tabela VI). Średnie stężenia E1 ulegały systematycznemu, chociaż nieistotnemu statystycznie spadkowi w kolejnych dobach badania zarówno u chorych z ciężką, jak i łagodną postacią choroby (tabela IV, rycina 1).

U chorych z SAP wzrost aktywności amylazy w surowicy w stosunku do MAP był o ponad 1,5-krotnie większy w 1-szej i 2,5-krotnie większy w 3-ciej dobie badania ($p = 0,02$); wzrost amylazy w moczu utrzymywał się na poziomie 2-krotnie wyższym w obu punktach czasowych ($p < 0,05$), natomiast lipazy pozostawał odpowiednio 1,6 i 2-krotnie większy ($p < 0,05$) (tabela IV).

Wyznaczono wartości odcięcia, wy-

liczono czułość i swoistość diagnostyczną oraz wartości LR+ i LR-. Z zachowaniem kryterium, o co najmniej 3-krotnym wzroście aktywności enzymów trzustkowych w chwili rozpoznania (1 doba) oraz w oparciu o ocenę morfologiczną trzustki, punkty odcięcia wynosiły odpowiednio: 816,0 U/L (amylaza w surowicy), 3932,0 U/L (amylaza w moczu) oraz 900,0 U/L (lipaza) potwierdzając istnienie ciężkiej postaci OZT z czułością diagnostyczną 75% (tabela V). Najwyższą czułość oraz swoistość diagnostyczną w 3-ciej dobie obserwacji wykazywała aktywność amylazy w moczu, odpowiednio 80% oraz 78,6% (tabela V). W 3-ciej dobie obserwowano wyraźne obniżenie wartości diagnostycznej oznaczeń amylazy i lipazy w surowicy; czułość diagnostyczna nie przekraczała 70%; wartości LR+ utrzymywały się w granicach 2, natomiast wartość LR- około 0,5 (tabela V).

W celu oceny wartości predykcyjnej E1 dla rozpoznania OZT w 1 dobie badania, wyznaczono punkt odcięcia na poziomie 7,87 ng/mL, dla którego czułość diagnostyczna wynosiła 90% zaś swoistość diagnostyczna 33,3%. Dla testów mających statystycznie znamienne wartości dla rozpoznawania OZT (tj. amy-

laza w surowicy i w moczu, lipaza w surowicy) wyliczono wartości NND. Najlepszą wartość NND = 1,7 dla rozpoznania OZT posiadała ocena aktywności amylazy w moczu w 3-ciej dobie, najłabszą natomiast pomiar lipazy (NND = 4) w 1-szej dobie (tabela V).

W 1-szej dobie obserwacji wykazano korelację pomiędzy wzrostem E1 i amylazy w surowicy ($R=0,408$; $p<0,05$) oraz pomiędzy wzrostem E1 oraz aktywnością amylazy w moczu ($R=0,486$; $p<0,05$). U wszystkich chorych na OZT wyliczono wskaźnik lipaza/amylaza (L/A), który nie różnił się istotnie pod względem statystycznym dla grup z MAP i SAP i wynosił odpowiednio 2,21 vs 2,30 (1 doba) oraz 2,14 vs 1,80 (3 doba hospitalizacji). U chorych z żółciopochodną etiologią OZT, wskaźnik L/A był nieznamiennie wyższy w 1-szej dobie obserwacji (2,50 vs 2,2), natomiast wartości w 3-ciej dobie dla obu grup były jednakowe i wynosiły 2,0. U chorych z alkoholową etiologią OZT, L/A wynosił odpowiednio: 2,84 w 1-szej dobie i spadał do 1,02 w 3-ciej dobie hospitalizacji.

Dyskusja

Najważniejsze cele jakie stawiamy testem wykorzystywanym w diagnostyce OZT to wysoka czułość i swoistość testu pozwalające na możliwie najwcześniejsze rozpoznanie schorzenia, jak i różnicowanie klinicznie łagodnej postaci i ciężkiej, w której istnieje możliwość wystąpienia zagrażających życiu powikłań. Zupełnie odmienną, ale równie istotną dziedzinę stanowią kwestie analityczne, czyli wysoka powtarzalność pomiarów, prostota wykonania, krótki czas do uzyskania wyniku i niski koszt badania.

Pomimo wielu rozbieżnych ocen na temat znaczenia badań laboratoryjnych w rozpoznawaniu OZT, ocena aktywności enzymów trzustkowych (amylaza i lipaza) uznawana jest za „złoty standard” w diagnostyce tego schorzenia [9,17,18]. Enzymy te posiadają podobne maksimum wydzielnicze przypadające na pierwsze 24 godziny od wystąpienia symptomów choroby, jednak krótszy okres połowicznego zaniku amylazy, wydłużenie czasu od początku choroby do chwili przyjęcia do leczenia, jak i towarzysząca hipertriglicydemia, czy alkoholowa etiologia choroby powodują, że to ocena aktywności lipazy uznana została wg. Santorini Consensus Conference Report za pierwszoplanowe badanie biochemiczne w rozpoznawaniu OZT [4,9]. Pomiar ak-

tywności lipazy, chociaż znacznie bardziej swoistej narządowo dla trzustki, jak wynika z badań własnych autorów pracy, nie zawsze adekwatnie odzwierciedla objawy kliniczne OZT. Kokozdidis i wsp. [17] przyczynę tego zjawiska tłumaczą zbyt dużym odsetkiem fałszywie dodatnich wyników oznaczeń lipazy, na które może wpływać np. translokacja bakteryjna, refluks enzymów do przewodu trzustkowego, aktywacja trypsynogenu w przebiegu schorzeń wątroby wynikająca z nadmiernej sekrecji $\alpha 1$ -antytrypsyny, uremia, schorzenia naczyniowe, przyjmowanie niektórych leków (furosemid), czy hipowolemia [4,17,19].

Wyznaczenie punktów odcięcia na poziomie 3-krotnego wzrostu aktywności enzymów, zalecane w obowiązujących wytycznych wpływa na podniesienie czułości diagnostycznej dla rozpoznawania OZT, odbywa się jednak kosztem obniżenia ich swoistości diagnostycznej. Obserwacje te są zgodne z uzyskanymi w tym badaniu wynikami, gdzie swoistość diagnostyczna nie przekraczała 70% w 1-szej dobie choroby, nieznacznie poprawiając się w kolejnych dniach przebiegu OZT (tabela V). Kokozdidis i wsp. [17] wskazują również na szczególnie niską swoistość diagnostyczną pomiaru amylazy w surowicy u chorych z OZT, zależną od jej etiologii, (np. mierzone po ERCP), jak również na samą hiperamylazemię, która nawet w 70% przypadków może towarzyszyć schorzeniom innym niż OZT [17,19].

W ujęciu epidemiologicznym o niezadawalającej swoistości diagnostycznej pomiarów aktywności amylazy i lipazy może świadczyć wartość NND (number needed to diagnose). Wskaźnik NND, analogicznie do NNT (number needed to treat) określa liczbę chorych, u których należałoby zastosować określoną procedurę diagnostyczną, aby wykryć chorobę u jednego z nich. Najlepszy efekt osiągnąć jest wówczas, gdy wartość NND wynosi 1, co daje pewność, że u każdego, u kogo przeprowadzono dany test diagnostyczny możliwe jest na jego podstawie postawienie pewnego rozpoznania OZT. Analiza statystyczna wykazała jednak, że wartości NND dla wybranych enzymów trzustkowych przekraczają 1. Wyraźnie potwierdza to ograniczenia danego testu w procesie diagnostycznym tzn., że aktywność enzymu przekraczająca punkt odcięcia 816,0 U/L (amylaza w surowicy), 3932,0 u/L (amylaza w moczu) oraz 900,0 U/L (lipaza) nie dla każdego chorego może być w istocie progrem decyzyjnym dla rozpoznania OZT (tabela V).

Badania Wilson i wsp. [1] wykazały, że w przypadku E1 wyznaczając punkt odcięcia na poziomie 3,5 ng/mL w ciągu 48 h od przyjęcia do leczenia, test pozwalała na rozpoznanie OZT z czułością diagnostyczną 75% oraz swoistością 97%. Po tym czasie wartości te ulegały zdecydowanej poprawie i mogły wzrosnąć nawet do 100% [1]. Badania własne autorów potwierdziły największą przydatność oznaczeń E1 w surowicy ok. 3 doby od momentu przyjęcia chorego na oddział. Pomiar E1 w tym okresie choroby może jednak nie spełniać oczekiwań klinicystów poszukujących testów pomocnych we wczesnym rozpoznaniu choroby, tym bardziej, że pozostałe enzymy trzustkowe ulegają po tym czasie znacznemu obniżeniu, a u ok. 16% chorych z OZT aktywność amylazy osiąga już zwykle zakres wartości prawidłowych [14].

Drugą poważną grupą czynników ograniczających dostępność oznaczeń E1 w codziennej praktyce klinicznej pozostaje technika jej pomiaru. Do chwili obecnej na rynku europejskim dostępne są zaledwie dwa rodzaje testów tj. radioimmunologiczny (RIA, Abbott Diagnostics) oraz immunochemiczny (ELISA; ScheboTech). Przy użyciu tego ostatniego możliwe jest oznaczenie stężenia E1 zarówno w surowicy krwi, jak i w kale. Wzrosty stężenia E1 w surowicy pozostają zależne od stopnia nasilenia zmian zapalnych mięszu trzustki, co może uzasadniać zastosowanie jej oznaczeń w diagnostyce OZT. Natomiast pomiar E1 w kale ma już ugruntowane znaczenie w diagnostyce zaburzeń funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki, mając praktyczne znaczenie w jej ocenie po przebyciu ciężkiej postaci OZT. Wynika to stąd, że E1 ulega degradacji jedynie w niewielkim stopniu podczas pasażu jelitowego, zaś jej stężenie w kale pozostaje prawie 6-krotnie wyższe od stężenia w surowicy [14].

Oznaczenia z wykorzystaniem techniki ELISA nie spełniają wymogów uzyskiwania wyników w trybie pracy laboratorium badań pilnych, a ich koszt jednostkowy w odniesieniu do potencjalnych korzyści diagnostyczno-klinicznych pozostaje niewspółmiernie wysoki. Te uwarunkowania oraz maksymalny wzrost osiągniany zwykle przez E1 pomiędzy 3 a 4 dobą zmusza do postawienia pytania o zasadność i ewentualną ocenę korzyści, jakie można osiągnąć z jej oznaczania na etapie wstępnego rozpoznania OZT.

Niestety, również wiele danych prze-

mawia za tym, że pomiar E1 ma swoje ograniczenia jako czynnik niepomysłnego rokowania w OZT. Yadev i wsp. [18] wykazali, że E1 nie koreluje z ciężkością schorzenia oraz możliwym rozwojem powikłań. Autorom pracy również nie udało się potwierdzić roli E1 jako czynnika rokowniczego - nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic pomiędzy chorymi o różnym stopniu ciężkości OZT przy przyjęciu do leczenia.

Jedyną cechą zbieżną z badaniami Pezzilli i wsp. [20] było obserwowane w niniejszym badaniu mniejsze tempo wzrostu E1 u chorych z żółciopochodną etiologią OZT. Pomiar E1 można jednak w tej sytuacji zastąpić prostym wyliczeniem wskaźnika L/A, który jak podaje Devanath i wsp. [19] po przekroczeniu wartości 3 pozwala na różnicowanie pomiędzy kamiczą i niekamiczą etiologią OZT, aktywność amylazy posiada bowiem znacznie wolniejsze tempo wzrostu u osób z niekamiczą (np. alkoholową) etiologią choroby.

Podsumowując, tradycyjnie stosowane w diagnostyce OZT oznaczenia aktywności amylazy i lipazy cechują się ograniczoną trafnością diagnostyczną określaną przez czułość i swoistość w pierwszych trzech dniach obserwacji poniżej 80%, wartość LR+: 1,5-3,7 (optymalna >10) i NND w zakresie 1,7 do 4. Stwierdzenie wzrostu aktywności tych enzymów powy-

żej przyjętych punktów odcięcia, a także wyniki ujemne nie mogą być jedyną podstawą rozpoznania lub wykluczenia OZT. Uzyskane wyniki mogą wskazywać na przydatność oznaczeń elastazy trzustkowej 1 w diagnostyce OZT jedynie w późniejszym okresie choroby.

Piśmiennictwo

1. **Wilson RB, Warusavitarne J, Cramer DM et al.** Serum elastase in the diagnosis of acute pancreatitis: a prospective study. *ANZ J Surg* 2005; 75: 152-156.
2. UK Working Party on Acute Pancreatitis. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54: 1-9.
3. **Banks PA, Freeman ML.** Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400.
4. **Matull WR, Pereira SP, O'Donohue JW.** Biochemical markers of acute pancreatitis. *J Clin Pathol* 2006; 59: 340 - 344.
5. **Yegneswaran B, Pitchumoni CS.** When should serum amylase and lipase levels be repeated in a patients with acute pancreatitis. *Cleveland Clin J Med* 2010; 77: 230-231.
6. **Anghelacopoulos SE, Uhl W, Buchler MW.** Variables predicting the severity in acute pancreatitis. *Surg Chronicles (Suppl.)* 2001: 19-27.
7. **Shah AM, Eddi R, Kothari ST et al.** Acute pancreatitis with normal serum lipase: a case report. *JOP J Pancreas* 2010; 11: 369-372.
8. **He-bin F, An-shen C, Xiao-fei Z. et al.** Severe acute pancreatitis with normal lipase serum level complicating leukemoid reaction. *J Chinese Clin Med* 2009; 4: 473-475.
9. **Dervenis C.** Assessments of severity and management of acute pancreatitis based on the Santorini Consensus Conference Report. *JOP* 2000; 1: 178-182.
10. **Regner S, Manjer J, Appelros S. et al.** Protease activation, pancreatic leakage, and inflammation in acute pancreatitis: differences between mild and severe cases and changes over the first three days. *Pancreatology* 2007; 8: 600-607.
11. **Al-Bahrani AZ, Ammori BJ.** Clinical laboratory assessment of acute pancreatitis. *Clin Chem Acta* 2005; 362: 26-48.
12. **Sandberg AA, Borgstrom A.** Early prediction of severity in acute pancreatitis. Is this possible? *JOP J Pancreas* 2002; 3: 116-125.
13. **Panteghini M, Bais R.** Enzymes. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.E. (eds.) *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 6th ed. Saunders Elsevier 2008: 317-336.
14. **Malfertheiner P, Buchler M, Stanescu A, Uhl W, Ditschuneit H.** Serum elastase 1 in inflammatory pancreatic and gastrointestinal disease and in renal insufficiency. A comparison with other serum pancreatic enzymes. *Internat J Pancreatology* 1987; 2: 159-170.
15. Acute Pancreatitis Classification Working Group: Revision of the Atlanta Classification of acute pancreatitis. 2008, H:/MGSarr/Documents/Atlanta Classification.doc
16. **Bollen TL, van Santvoort HC, Besselink MG et al.** The Atlanta Classification of acute pancreatitis revisited. *Br J Surg* 2008; 95: 6-21.
17. **Kokozidis G, Kinigopoulou P, Kapetanios D et al.** The value of elastase evaluation in comparison with amylase and lipase in prediction and diagnosis of post-ERCP pancreatitis. *Ann Gastroenterol* 2000; 13: 135-137.
18. **Yadav D, Agarwal N, Pitchumoni CS.** A critical evaluation of laboratory tests in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1309 - 1318.
19. **Devanath A, Kumari J, Joe J. et al.** Usefulness of lipase/amylase ratio in acute pancreatitis in South Indian population. *Indian J Clin Biochem* 2009; 24: 361-365.
20. **Pezzilli R, Simoni P, Casadei R et al.** Exocrine pancreatic function during the early recovery phase of acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 316-319.