

Klinika Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Endokrynologicznej

Zakład Chirurgii i Pielęgniarstwa Chirurgicznego

Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Stanisław Głuszek

## Ocena przydatności klinicznej oznaczenia stężenia metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej 2 i 9 jako czynników prognostycznych ciężkiej postaci ostrego zapalenia trzustki.

### Główne punkty rozprawy

#### 1. Wstęp

- 1.1. Definicja ostrego zapalenia trzustki
- 1.2. Czynniki etiologiczne ostrego zapalenia trzustki
- 1.3. Mechanizmy indukcji oraz patogenezę ostrego zapalenia trzustki
- 1.4. Epidemiologia ostrego zapalenia trzustki
- 1.5. Rodzaje ostrego zapalenia trzustki
- 1.6. Powikłania miejscowe w przebiegu ostrego zapalenia trzustki
- 1.7. Skale prognostyczne oraz rokowanie w przypadku ostrego zapalenia trzustki
- 1.8. Definicja metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej
- 1.9. Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w organizmie
  - 1.9.1 Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w chorobach układu sercowo-naczyniowego
  - 1.9.2 Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w chorobach układu oddechowego
  - 1.9.3 Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w chorobach reumatycznych
  - 1.9.4 Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w onkogenezie
  - 1.9.5 Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w chorobach trzustki
- 1.10. Zastosowanie oznaczania aktywności metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w medycynie klinicznej

## **2. Cel pracy**

## **3. Materiał i metody**

- 3.1. Badanie podmiotowe i przedmiotowe
- 3.2. Badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej
- 3.3. Badanie tomografii komputerowej jamy brzusznej
- 3.4. Badania laboratoryjne
- 3.5. Oznaczenie całkowitego stężenia metaloproteinaz w surowicy
  - 3.5.1. Oznaczenie całkowitego stężenia metaloproteinazy 2 w surowicy
  - 3.5.2. Oznaczenie całkowitego stężenia metaloproteinazy 9 w osoczu
- 3.6. Ocena przydatności skal prognostycznych oraz porównanie z przydatnością oznaczenia stężenia metaloproteinazy 2 i 9
- 3.7. Analiza statystyczna

## **4. Wyniki**

- 4.1 Wstępna charakterystyka grupy badanej
- 4.2 Analiza zmian miejscowych oraz obecność wysięku opłucnowego
- 4.3 Analiza parametrów laboratoryjnych
- 4.4 Wstępna analiza stężenia metaloproteinazy 2 (MMP - 2)
- 4.5 Wstępna analiza stężenia metaloproteinazy 9 (MMP - 9)
- 4.6 Analiza dostępnych skal prognostycznych
  - 4.6.1 Skala APACHE II
  - 4.6.2 Skala Ranson
  - 4.6.3 Skala Glasgow
  - 4.6.4 Skala BISAP
  - 4.6.5 Skala panc - 3
  - 4.6.6 Skala CTSI
- 4.7 Szczegółowa analiza stężenia metaloproteinaz
  - 4.7.1 Analiza stężenia MMP - 2
  - 4.7.2 Analiza stężenia MMP - 9
  - 4.7.3 Porównanie przydatności klinicznej dostępnych skal prognostycznych ostrego zapalenia trzustki ze stężeniem metaloproteinazy - 2 i metaloproteinazy - 9.
  - 4.7.4 Porównanie przydatności klinicznej pojedynczych oznaczeń laboratoryjnych ze stężeniem metaloproteinazy - 2 i metaloproteinazy - 9.

## **5 Dyskusja**

## **6 Wnioski**

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

**Wstęp:** Ostre zapalenie trzustki (OZT) rozwija się w momencie zaburzenia równowagi mechanizmów hamujących aktywność enzymów w komórkach trzustki, co doprowadza do ich autoaktywacji już w obrębie tego narządu. Aktywowane enzymy wyzwalają kaskadę reakcji doprowadzającą do napływu komórek zapalnych - neutrofilii, eozynofili, limfocytów, monocytów i makrofagów w obręb narządu. Uwalniają one wiele aktywnych biologicznie substancji takich jak chemokiny, cytokiny, prostaglandyny, cząsteczki przylegania, składniki dopełniacza. [1–3] Mediatorzy te wyzwalają bardzo silną miejscową, a nierzadko i uogólnioną reakcję zapalną organizmu. Reakcja ta może być tak silna, że wymyka się spod kontroli doprowadzając do niewydolności wielonarządowej (niewydolności nerek, układu oddechowego, układu krążenia) [4–6].

Rozpoznanie ostrego zapalenia trzustki wymaga spełnienia co najmniej 2 z 3 podanych kryteriów: 1. typowe objawy podmiotowe - ból nadbrzusza, który często ma charakter opasujący, promieniujący do pleców; 2. aktywność osoczowa amylazy lub lipazy przekraczająca co najmniej 3 - krotnie górną wartość norm dla danego laboratorium; 3. wyniki badań obrazowych typowe dla ostrego zapalenia trzustki. Klasyfikacja ciężkości zgodnie z nowelizacją z Atlanty [7] wyróżnia trzy stopnie ciężkości ostrego zapalenia trzustki: lekką, umiarkowaną i ciężką.

Ostre zapalenie trzustki jest powszechną jednostką chorobową. W różnych częściach świata zapadalność waha się w zakresie od 10 do 44 przypadków na 100 000 mieszkańców na rok [8–11]. Wobec zwiększonej zachorowalności na choroby cywilizacyjne, takie jak cukrzyca oraz otyłość, i związanym z tym ryzykiem rozwoju kamicy pęcherzyka żółciowego, jak również utrzymujących się tendencji do spożywania alkoholu, zwłaszcza wysokoprocentowego, uważa się, że zapadalność na OZT w najbliższym czasie wzrośnie. Ogólna śmiertelność w przypadku OZT wynosi 10- 15%. U chorych z rozpoznaniem ciężkiej postaci ostrego zapalenia trzustki śmiertelność wynosi nawet 30- 40% [12].

W dalszym ciągu nie udało się opracować dokładnego algorytmu postępowania ani idealnej skali do przewidywania ciężkości tej jednostki chorobowej [13, 14]. Do oceny ryzyka wystąpienia ciężkiej postaci ostrego zapalenia trzustki brane są pod uwagę wieloparametrowe skale diagnostyczne (APACHE II, Glasgow, BISAP, Ranson) oraz pojedyncze czynniki laboratoryjne (CRP, kreatynina, hematokryt, prokalcytonina). Użyteczność pierwszej grupy jest ograniczona ze względu na ilość parametrów, jaka jest konieczna do dokładnej oceny.

Z kolei druga grupa narzędzi charakteryzuje się znacznie mniejszą swoistością diagnostyczną. W związku z tym należy poszukiwać nowych metod przewidywania ciężkiej postaci ostrego zapalenia trzustki.

Metaloproteinazy to grupa enzymów proteolitycznych zawierających w swoim centrum katalitycznym jon cynku ( $Zn^{2+}$ ). W warunkach fizjologicznych są one wydzielane jedynie podczas embriogenezy oraz gojenia tkanek. Nie mniej jednak zwiększona lub nieprawidłowa ekspresja może występować podczas procesów zapalnych, nowotworowych i degeneracyjnych. Stwierdzono, że aktywność metaloproteinaz jest wprost proporcjonalna do agresywności nowotworu. Ich ekspresja jest nasilana przez komórki zapalne naciekające guz. W przypadkach nowotworowych zwiększają one neoangiogenezę w obrębie guza oraz jego zdolność do tworzenia przerzutów [15, 16].

W przypadku OZT uważa się, że metaloproteinazy mogą pełnić zasadniczą rolę w uszkodzeniu ścian pęcherzyków płucnych i związanej z tym niewydolności oddechowej. Niewydolność oddechowa w przebiegu ostrego zapalenia trzustki jest jedną z głównych przyczyn śmierci pacjentów [4]. Poza tym udowodniono wpływ metaloproteinaz na uszkodzenie śródbłonna naczyniowego kapilar nerkowych, co może być przyczyną ostrego uszkodzenia nerek w przebiegu OZT [5].

**Przesłanka do podjęcia badań:** Przesłanką do podjęcia moich badań był brak jednoznacznych wyników znaczenia i przydatności klinicznej oznaczania stężenia metaloproteinazy 2 (MMP – 2) i metaloproteinazy 9 (MMP – 9) jako czynników predykcyjnych ciężkości ostrego zapalenia trzustki.

**Cel pracy:** Celem pracy była ocena przydatności klinicznej oznaczania metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej z grupy żelatynaz - 2 i 9 - jako czynników predykcyjnych ciężkości ostrego zapalenia trzustki w odniesieniu do aktualnie stosowanych czynników oraz skal prognostycznych.

**Materiał i metodyka:** Do badania włączono osoby, u których rozpoznano ostre zapalenie trzustki na podstawie zmodyfikowanych kryteriów klasyfikacji z Atlanty 2012 [7]. Z badania wykluczono chorych, u których stwierdzono choroby przewlekłe, nowotwory lub tych, u których OZT było postacią nawrotową. U każdego chorego przy przyjęciu pobrano krew do badań laboratoryjnych (morfologia, amylaza, lipaza, aminotransferaza alaninowa, aminotransferaza asparaginowa, fosfataza zasadowa, gammaglutamylotranspeptydaza, bilirubina całkowita, glukoza, mocznik, kreatynina, wapń całkowity, sód, potas, albumina,

białko całkowite, dehydrogenaza mleczanowa, cholesterol całkowity, cholesterol HDL, cholesterol LDL, trójglicerydy, pH, białko C- reaktywne) oraz dodatkowo oznaczono stężenia metaloproteinazy 2 i 9 w surowicy krwi.

Oznaczenie stężenia metaloproteinaz przeprowadzono na aparacie Evolis firmy Bio - Rad przez zastosowanie testu immunoenzymatycznego (ELISA – enzyme - linked immunosorbent assay). Użyto zestawów FineTest firmy Wuhan Fine Biotech Co. Ltd. Do oznaczenia metaloproteinazy 2 zastosowano Human MMP-2 (Matrix Metalloproteinase 2) ELISA Kit (kod EH0017). Metoda pozwala na specyficzny i dokładny pomiar z czułością  $< 0,191$  ng/ml. Do oznaczenia metaloproteinazy 9 zastosowano Human MMP-9 (Matrix Metalloproteinase 9) ELISA Kit (kod EH0238). Metoda pozwala na specyficzny i dokładny pomiar z czułością  $< 0,188$  ng/ml. Oznaczenia oparte są na metodzie sandwichowej ELISA.

Oceniono chorych w wieloparametrowych skalach prognostycznych: Ransona, APACHE II, Glasgow, BISAP, panc- 3. Dodatkowo przeanalizowano najbardziej popularne pojedyncze czynniki prognostyczne. Powtórnej oceny chorego dokonano po 48 godzinach od momentu przyjęcia do szpitala. Ocenę końcową przeprowadzono w chwili wypisania chorego ze szpitala lub zgonu. Każdego chorego przypisano do jednej z 3 grup ciężkości ostrego zapalenia trzustki. Porównano stężenie osocze MMP-2 i MMP-9 w grupach „lekka + umiarkowana” do grupy „ciężka”. Zbadano korelację z analizowanymi skalami prognostycznymi oraz z przebiegiem choroby. Dokonano analizy statystycznej używając najbardziej popularnych narzędzi: czułość, swoistość, moc diagnostyczna (krzywa ROC).

**Wyniki:** Do badania włączono 72 chorych na ostre zapalenie trzustki. Pacjentów podzielono na trzy grupy w zależności od stopnia ciężkości choroby zgodnie z klasyfikacją Atlanta 2012 [7]. Postać lekka wystąpiła u 42 chorych (58,34%) - 27 kobiet (64,3%) i 15 mężczyzn (35,7%). Postać umiarkowana wystąpiła u 16 chorych (22,22%) - 3 kobiety (18,8%) i 13 mężczyzn (81,2%). Postać ciężka wystąpiła u 14 chorych (19,44%) - 4 kobiety (28,6%) i 10 mężczyzn (71,4%). Mediana wieku pacjentów wynosiła odpowiednio: 58,0 (20,0 - 89,0) dla postaci lekkiej, 57,5 (22,0 - 96,0) dla postaci umiarkowanej, 56,5 (30,0 - 88,0) dla postaci ciężkiej.

Wartości MMP - 2 powyżej 50 ng/ml nie wystąpiły w lekkiej postaci OZT. Częstość występowania stężenia MMP - 2 powyżej 50 ng/ml jest istotnie związana z zaawansowaniem choroby.

Wartości MMP - 9 powyżej 25 ng/ml jednostek nie wystąpiły w lekkiej i umiarkowanej postaci OZT. Częstość występowania stężenia MMP - 9 powyżej 25 ng/ml jest istotnie związana z zaawansowaniem choroby.

**Wnioski:** Oznaczenie stężenia metaloproteinazy 2 lub metaloproteinazy 9 cechuje się czułością i swoistością porównywalną z wieloparametrowymi skalami prognostycznymi w prognozowaniu przebiegu ostrego zapalenia trzustki.

## References

1. Chowdhury P (2006) Pathophysiology of alcoholic pancreatitis: An overview. *WJG* 12(46): 7421. doi: 10.3748/wjg.v12.i46.7421
2. Głuszek S, Kozieł D (2018) Genetic determination of pancreatitis. *Medical Studies/Studia Medyczne* 34(1): 70–77. doi: 10.5114/ms.2018.74823
3. Hammer HF (2014) An update on pancreatic pathophysiology (do we have to rewrite pancreatic pathophysiology?). *Wien Med Wochenschr* 164(3-4): 57–62. doi: 10.1007/s10354-013-0260-y
4. Akbarshahi H, Rosendahl AH, Westergren-Thorsson G et al. (2012) Acute lung injury in acute pancreatitis--awaiting the big leap. *Respir Med* 106(9): 1199–1210. doi: 10.1016/j.rmed.2012.06.003
5. Zhang XP, Wang L, Zhou YF (2008) The pathogenic mechanism of severe acute pancreatitis complicated with renal injury: a review of current knowledge. *Dig Dis Sci* 53(2): 297–306. doi: 10.1007/s10620-007-9866-5
6. Li H, Qian Z, Liu Z et al. (2010) Risk factors and outcome of acute renal failure in patients with severe acute pancreatitis. *J Crit Care* 25(2): 225–229. doi: 10.1016/j.jcrc.2009.07.009
7. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C et al. (2013) Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 62(1): 102–111. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302779
8. Kozieł D, Głuszek S (2016) Epidemiology of acute pancreatitis in Poland – selected problems. *sm* 1: 1–3. doi: 10.5114/ms.2016.58798
9. Głuszek S, Kozieł D (2012) Prevalence and progression of acute pancreatitis in the Świętokrzyskie Voivodeship population. *Pol Przegl Chir* 84(12): 618–625. doi: 10.2478/v10035-012-0102-4
10. Nesvaderani M, Eslick GD, Vagg D et al. (2015) Epidemiology, aetiology and outcomes of acute pancreatitis: A retrospective cohort study. *Int J Surg* 23(Pt A): 68–74. doi: 10.1016/j.ijssu.2015.07.701
11. Yadav D, Lowenfels AB (2013) The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology* 144(6): 1252–1261. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.068
12. He W-H, Zhu Y, Zhu Y et al. (2017) Comparison of multifactor scoring systems and single serum markers for the early prediction of the severity of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 32(11): 1895–1901. doi: 10.1111/jgh.13803
13. (2013) IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis. *Pancreatology* 13(4 Suppl 2): e1-15. doi: 10.1016/j.pan.2013.07.063

14. Lee KJ, Kim HM, Choi JS et al. (2016) Comparison of Predictive Systems in Severe Acute Pancreatitis According to the Revised Atlanta Classification. *Pancreas* 45(1): 46–50. doi: 10.1097/MPA.0000000000000433
15. Singh D, Srivastava SK, Chaudhuri TK et al. (2015) Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs). *Front Mol Biosci* 2. doi: 10.3389/fmolb.2015.00019
16. Gross J, Lapiere CM (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci U S A* 48(6): 1014–1022

Łukasz Nawacki M.D.

Clinic of General, Oncological and Endocrine Surgery

Regional Polyclinical Hospital in Kielce, Poland

The Faculty of Medicine and Health Sciences

Jan Kochanowski University in Kielce, Poland

Supervisor: Prof. Stanisław Głuszek

# **The evaluation of clinical usefulness of matrix metalloproteinases 2 and 9 as prognostic factors of severe acute pancreatitis.**

## **Main points of doctoral thesis**

### **1. Introduction**

- 1.1. Definition of acute pancreatitis
- 1.2. Etiological factors of acute pancreatitis
- 1.3. Mechanisms of induction and pathogenesis of acute pancreatitis
- 1.4. Epidemiology of acute pancreatitis
- 1.5. Forms of acute pancreatitis
- 1.6. Local complications of acute pancreatitis
- 1.7. Prognostic scales and prognosis in acute pancreatitis
- 1.8. Definition of matrix metalloproteinases
- 1.9. Role of matrix metalloproteinases in organism:
  - 1.9.1. Role of matrix metalloproteinases in cardiovascular diseases
  - 1.9.2. Role of matrix metalloproteinases in respiratory system diseases
  - 1.9.3. Role of matrix metalloproteinases in rheumatic diseases
  - 1.9.4. Role of matrix metalloproteinases in oncogenesis
  - 1.9.5. Role of matrix metalloproteinases in pancreatic diseases



- 1.10. The evaluation of clinical usefulness of matrix metalloproteinases in clinical medicine
2. **Objective**
3. **Materials and methods**
  - 3.1. Medical examination
  - 3.2. Abdominal ultrasound exam
  - 3.3. CT scan of abdominal cavity
  - 3.4. Laboratory tests
  - 3.5. Determination of serum matrix metalloproteinases concentration:
    - 3.5.1. Determination of serum matrix metalloproteinases 2 (MMP – 2) concentration
    - 3.5.2. Determination of serum matrix metalloproteinases 9 (MMP – 9) concentration
  - 3.6. The evaluation of clinical usefulness of matrix metalloproteinases 2 and 9 in comparison to common acute pancreatitis prognostic scales
  - 3.7. Statistical analysis
4. **Results**
  - 4.1. Initial characteristic of the study group
  - 4.2. The analysis of local complications and pleural effusion
  - 4.3. The analysis of laboratory parameters
  - 4.4. The preliminary analysis of serum MMP – 2 concentration
  - 4.5. The preliminary analysis of serum MMP – 9 concentration
  - 4.6. The evaluation of common prognostic scales
    - 4.6.1. APACHE II scale
    - 4.6.2. Ranson scale
    - 4.6.3. Glasgow scale
    - 4.6.4. BISAP scale
    - 4.6.5. Panc-3 scale
    - 4.6.6. CTSI scale
  - 4.7. Detailed analysis of matrix metalloproteinases concentration
    - 4.7.1. Detailed analysis of serum MMP – 2 concentration
    - 4.7.2. Detailed analysis of serum MMP – 9 concentration
    - 4.7.3. The confrontation of clinical usefulness of matrix metalloproteinases 2 and 9 and common acute pancreatitis prognostic scales
    - 4.7.4. The confrontation of clinical usefulness of matrix metalloproteinases 2 and 9 and single laboratory parameters

## 5. Discussion

## 6. Conclusion

### The Abstract of Doctoral Thesis

**Introduction:** Acute pancreatitis (AP) develops in the moment of imbalance in mechanisms inhibiting the activation of enzymes in pancreas cells, which leads to their autoactivation in the organ. Activated enzymes release a cascade of reactions, which causes infiltration of pancreas with inflammatory cells – neutrophils, eosinophils, lymphocytes, monocytes and macrophages. These cells produce and release many active substances – chemokines, cytokines, prostaglandins, adhesion molecules, complement molecules [1-3]. These mediators trigger a very intense local and often systemic inflammatory response. This reaction can be so intense that it gets out of control leading to multiorgan failure (renal, respiratory system, cardiovascular system) [4-6].

The diagnosis of acute pancreatitis requires the fulfillment of at least two of the following three criteria: 1) typical physical symptoms – abdominal pain, often of a girdling character, radiating to the back; 2) serum amylase or lipase activity at least three times greater than the upper limit of normal laboratory values; 3) characteristic imaging findings of acute pancreatitis. The criteria for the diagnosis of acute pancreatitis are based on the 2012 revision of The Atlanta Classification and definitions by international consensus [7]. According to the classification AP can be divided into three forms: mild, moderate and severe.

Acute pancreatitis is a common disease. In different regions of the world its incidence varies from 10 do 44 cases on 100 000 inhabitants per year [8-11]. Due to increasing number of civilization diseases, such as obesity and diabetes mellitus, and related with it cholelithiasis, as well as the persistent tendency to consume alcohol, especially strong liquor, it is assumed that the incidence rate of acute pancreatitis will increase in near future. Overall mortality in AP is 10 – 15%. Among patients diagnosed with severe acute pancreatitis (SAP) the mortality rate is even 30 – 40% [12].

The exact algorithm of the procedure and the ideal scale for predicting the severity of this disease have not been developed yet [13,14]. To assess the risk of severe acute pancreatitis, multi-parameter diagnostic scales (APACHE II, Glasgow, BISAP, Ranson) and single laboratory factors (CRP, creatinine, haematocrit, procalcitonin) are considered. The usefulness of the first group is limited due to the number of parameters necessary for accurate evaluation.

In turn, the second group of tools is characterized by significantly lower diagnostic specificity than the first one. Therefore, new methods for predicting severe acute pancreatitis should be sought.

Metalloproteinases are a group of proteolytic enzymes containing in their catalytic centre a zinc ion ( $Zn^{2+}$ ). Under physiological conditions, they are secreted only during embryogenesis and tissue healing. Nevertheless, their increased or abnormal expression may occur during inflammatory, neoplastic and degenerative processes. It has been found that metalloproteinase activity is directly proportional to tumour aggressiveness. Their expression is intensified by inflammatory cells infiltrating the tumour. In cancer cases, they increase neoangiogenesis within the tumour and its ability to form metastases [15, 16].

It is considered that matrix metalloproteinases can play a vital role in damage to alveolar walls and associated with it respiratory failure. Respiratory failure in the course of acute pancreatitis is one of the main causes of patient's death [4]. In addition, the influence of matrix metalloproteinases on damage to renal capillaries vascular endothelium has been proven. This may be the cause of acute renal failure in the course of acute pancreatitis [5].

**The premise to aim the research:** The premise to undertake my research was the lack of unambiguous results of the significance and clinical usefulness of the determination of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) serum concentration as predictors of severe acute pancreatitis.

**Objective:** The aim of the study was to assess the clinical usefulness of matrix metalloproteinases (gelatinases group) - 2 and 9 - as predictors of acute pancreatitis severity in relation to currently used factors and prognostic scales.

**Materials and methods:** The study included 72 patients with the diagnosis of first-time episode of acute pancreatitis. The criteria for the diagnosis of acute pancreatitis were based on the 2012 revision of The Atlanta Classification. The following exclusion criteria were adopted in the study: 1) recurrent acute pancreatitis; 2) chronic concomitant diseases; 3) medical history of cancer; 4) surgical procedure performed within the last half a year; 5) incomplete medical records, lack of determination of indispensable laboratory markers; 6) occurrence of symptoms within more than 24 hours after hospital admission.

Each patient had blood samples collected on the time of admission. These laboratory parameters were determined: morphology, amylase, lipase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transpeptidase, total bilirubin, glucose, urea, creatinine, total calcium, sodium, potassium, albumin, total protein, lactate dehydrogenase, total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, pH, C-reactive protein. An additional blood sample was collected for determination of each matrix metalloproteinase. The subsequent samples were collected after 24 and 48 hours.

The determinations of the level of metalloproteinases were performed by means of the Bio-Rad Evolis system by using the immunoenzymatic test (ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay). The Wuhan Fine Biotech Co. Ltd. Fine Test kits were used. Metalloproteinase-2 was determined using Human MMP-2 (Matrix Metalloproteinase 2) ELISA Kit (code EH0017). This method allows specific and precise measurement with sensitivity  $< 0.191$  ng/ml. Metalloproteinase-9 was determined using Human MMP-9 (Matrix Metalloproteinase 9) ELISA Kit (code EH0238). The method allows specific and precise measurement with sensitivity  $< 0.188$  ng/ml. Determinations are based on the sandwich ELISA method.

Patients were evaluated according to multiparameter prognostic scales: Ranson, APACHE II, Glasgow, BISAP, panc- 3. Additionally, the most popular single prognostic factors were analysed. Each patient was re-assessed 24 and 48 hours after admission to the hospital. The final assessment was carried out at the time of discharge from the hospital or death. Each patient was assigned to one of the three groups of severity of acute pancreatitis. The plasma concentrations of MMP-2 and MMP-9 were compared in the "mild + moderate" groups to the "severe" group. The correlation with the analysed prognostic scales and the course of the disease was examined. Statistical analysis was performed using the most popular tools: sensitivity, specificity, diagnostic power (ROC curve).

**Results:** Seventy two patients with acute pancreatitis were included in the study. Patients were divided into three groups depending on the severity of the disease according to the Atlanta 2012 classification [7]. Mild AP occurred in 42 patients (58.34%) - 27 women (64.3%) and 15 men (35.7%). Moderate AP occurred in 16 patients (22.22%) - 3 women (18.8%) and 13 men (81.2%). The SAP occurred in 14 patients (19.44%) - 4 women (28.6%) and 10 men (71.4%). Median age of patients was respectively: 58.0 (20.0 - 89.0) in the mild form, 57.5 (22.0 - 96.0) in moderate form, 56.5 (30.0 - 88.0) in the severe acute pancreatitis.

MMP - 2 values above 50 ng / ml did not occur in the mild acute pancreatitis. The incidence of MMP - 2 concentrations above 50 ng / ml is significantly related with the severity of the disease.

MMP – 9 values above 25 ng / ml were not present in the mild and moderate form of AP. The incidence of MMP – 9 concentration above 25 ng / ml is significantly related to the severity of the disease.

**Conclusion:** The determination of matrix metalloproteinase 2 or matrix metalloproteinase 9 concentration is characterized by sensitivity and specificity comparable with multiparameter prognostic scales in predicting the course of acute pancreatitis.

## References

1. Chowdhury P (2006) Pathophysiology of alcoholic pancreatitis: An overview. *WJG* 12(46): 7421. doi: 10.3748/wjg.v12.i46.7421
2. Głuszek S, Koziel D (2018) Genetic determination of pancreatitis. *Medical Studies/Studia Medyczne* 34(1): 70–77. doi: 10.5114/ms.2018.74823
3. Hammer HF (2014) An update on pancreatic pathophysiology (do we have to rewrite pancreatic pathophysiology?). *Wien Med Wochenschr* 164(3-4): 57–62. doi: 10.1007/s10354-013-0260-y
4. Akbarshahi H, Rosendahl AH, Westergren-Thorsson G et al. (2012) Acute lung injury in acute pancreatitis--awaiting the big leap. *Respir Med* 106(9): 1199–1210. doi: 10.1016/j.rmed.2012.06.003
5. Zhang XP, Wang L, Zhou YF (2008) The pathogenic mechanism of severe acute pancreatitis complicated with renal injury: a review of current knowledge. *Dig Dis Sci* 53(2): 297–306. doi: 10.1007/s10620-007-9866-5

6. Li H, Qian Z, Liu Z et al. (2010) Risk factors and outcome of acute renal failure in patients with severe acute pancreatitis. *J Crit Care* 25(2): 225–229. doi: 10.1016/j.jcrc.2009.07.009
7. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C et al. (2013) Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 62(1): 102–111. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302779
8. Koziel D, Głuszek S (2016) Epidemiology of acute pancreatitis in Poland – selected problems. *sm* 1: 1–3. doi: 10.5114/ms.2016.58798
9. Głuszek S, Koziel D (2012) Prevalence and progression of acute pancreatitis in the Świętokrzyskie Voivodeship population. *Pol Przegl Chir* 84(12): 618–625. doi: 10.2478/v10035-012-0102-4
10. Nesvaderani M, Eslick GD, Vagg D et al. (2015) Epidemiology, aetiology and outcomes of acute pancreatitis: A retrospective cohort study. *Int J Surg* 23(Pt A): 68–74. doi: 10.1016/j.ijssu.2015.07.701
11. Yadav D, Lowenfels AB (2013) The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology* 144(6): 1252–1261. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.068
12. He W-H, Zhu Y, Zhu Y et al. (2017) Comparison of multifactor scoring systems and single serum markers for the early prediction of the severity of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 32(11): 1895–1901. doi: 10.1111/jgh.13803
13. (2013) IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis. *Pancreatology* 13(4 Suppl 2): e1-15. doi: 10.1016/j.pan.2013.07.063
14. Lee KJ, Kim HM, Choi JS et al. (2016) Comparison of Predictive Systems in Severe Acute Pancreatitis According to the Revised Atlanta Classification. *Pancreas* 45(1): 46–50. doi: 10.1097/MPA.0000000000000433
15. Singh D, Srivastava SK, Chaudhuri TK et al. (2015) Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs). *Front Mol Biosci* 2. doi: 10.3389/fmolb.2015.00019
16. Gross J, Lapiere CM (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci U S A* 48(6): 1014–1022