

# Salivarni interleukin 6 kao marker kaheksije u onkoloških bolesnika

---

Hećimović, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:622935>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 3.0 Unported](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno 3.0](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-08**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Tea Hećimović

# **SALIVARNI INTERLEUKIN 6 KAO MARKER KAHEKSIJE U ONKOLOŠKIH BOLESNIKA**

Diplomski rad

Zagreb, 2018.

Rad je ostvaren na Zavodu za oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Zagrebu i Klinici za onkologiju KBC Zagreb.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vlaho Brailo, Zavod za oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Barbara Kružić, mag. educ. philol. angl. et mag. educ. philol. croat.

Lektor engleskog jezika: Barbara Kružić, mag. educ. philol. angl. et mag. educ. philol. croat.

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

Datum obrane rada: \_\_\_\_\_

Rad sadrži:

30 stranica

2 tablice

6 slika

1CD

Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se svom mentoru izv. prof. Vlasi Brailu koji mi je omogućio ovo istraživanje i uz puno truda i strpljenja pomogao da napravim ovaj rad.

Hvala doc. Borislavu Belevu i dr. Ivanu Biliću koji su mi mjesecima pomagali sa pronalaskom pacijenata i svojom ljubaznošću i duhovitošću olakšali dane provedene na tužnom odjelu onkologije.

Najveće hvala mojoj obitelji koja je bila uz mene tijekom cijelog školovanja i koja mi je omogućila sve što danas imam i ono što danas postajem. Uz vašu pomoć ovaj put bio je puno lakši i ljepši.

Posebno zahvaljujem Vitaliju koji je bio uz mene još na samim počecima i davao mi snage da doguram do kraja bez obzira na sve prepreke. Svojim racionalnim savjetima i realnim pogledom na svijet naučio si me kako se suočiti sa svakim problemom i riješiti ga na jednostavan način.

Hvala mojim prijateljima koji su uvijek bili spremni pomoći sa savjetima i učenjem. Hvala na svim kavama i razglabanjima, na svim neprospavanim noćima koje su prolazile u učenju, na svim porukama podrške, ali i smijeha.

Hvala mojim djedovima koji nisu više sa nama i zbog kojih sam se odlučila na istraživanje ove teme. Znam da su ovo mali koraci, skoro pa nevidljivi, ali su početak priče koju bih htjela bolje istražiti.

## **Salivarni interleukin 6 kao marker kaheksije u onkoloških bolesnika**

### **Sažetak**

Kaheksija je nenamjerni gubitak >10% tjelesne mase tijekom 12 mjeseci i javlja se u 50 – 80% bolesnika s karcinomom. Povezana je sa smanjenom kvalitetom života, lošijim odgovorom na terapiju i smanjenim preživljenjem. Važnu ulogu u patogenezi kaheksije ima interleukin 6 (IL-6), protuupalni citokin koji regulira održavanje mišićne mase.

Svrha istraživanja bila je ispitati mogućnost korištenja salivarnog IL-6 u dijagnostici kaheksije.

U istraživanju je sudjelovalo 37 pacijenata oboljelih od metastatske maligne bolesti. Uzorci nestimulirane sline prikupljeni su metodom pasivnog ispljuvka. Uzorci seruma prikupljeni su metodom venepunkcije kubitalne vene. Koncentracije salivarnog i serumskog IL-6 određivane su metodom enzimskog testa.

Nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji salivarnog i serumskog IL-6 između bolesnika s kaheksijom i bolesnika bez kaheksije. Salivarne i serumske vrijednosti IL-6 ni u jednoj od skupina nisu bile u međusobnoj korelaciji.

Uzevši u obzir sva ograničenja, rezultati ovog istraživanja, ukazuju da ni salivarni ni serumski IL-6 nije dovoljno osjetljiv marker za dijagnozu kaheksije u onkoloških bolesnika. Potrebna su daljnja istraživanja sa znatno većim brojem ispitanika.

**Ključne riječi:** kaheksija; interleukin 6; karcinom

## **Salivary interleukin 6 as a marker of cachexia in oncology patients**

### **Summary**

Cachexia is an unintended loss of >10% of body weight over 12 months and occurs in 50–80% of patients with cancer. It is associated with reduced quality of life, poor response to therapy, and reduced survival. Interleukin 6 (IL-6) plays an important role in cachexia pathogenesis, as it is an anti-inflammatory cytokine which regulates muscle mass maintenance.

The purpose of this study was to examine the possibility of using salivary IL-6 in cachexia diagnostics.

The study included 37 patients with the metastatic malignant disease. Unstimulated saliva samples were collected by passive spit method. Serum samples were collected by the venipuncture method of the cubital vein. Concentrations of salivary and serum IL-6 were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay.

Statistically significant differences were not found in salivary and serum IL-6 concentrations between patients with cachexia and patients without cachexia. The correlation was not found between salivary and serum IL-6 values in the observed groups.

Taking into account all the limitations, the results of this study indicate that neither salivary nor serum IL-6 is a sufficiently sensitive marker for cachexia diagnosis in oncology patients. Further research with a considerably larger number of participants is necessary.

**Keywords:** cachexia; interleukin 6; carcinoma

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Kaheksija .....	2
1.2. Interleukin 6.....	5
1.3. Svrha rada .....	7
2. ISPITANICI I POSTUPCI.....	8
2.1. Probir pacijenata .....	9
2.2. Prikupljanje uzoraka sline i seruma .....	9
2.3. Statistička obrada podataka .....	12
3. REZULTATI.....	13
4. RASPRAVA .....	19
4.1. Slina kao dijagnostičko sredstvo.....	20
4.2. Biomarker interleukin 6.....	21
4.3. Indeks tjelesne mase.....	22
5. ZAKLJUČAK .....	23
6. LITERATURA.....	25
7. ŽIVOTOPIS .....	29

## **Popis skraćenica**

IL-6 – interleukin 6

IL-6R – interleukin 6 receptor

IL-8 – interleukin 8

ATP – adenzin trifosfat

BMI – indeks tjelesne mase (eng. Body Mass Index)

CRP – C reaktivni protein

THC – tetrahidrokanabinol

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

IgA – imunoglobulin A

IL-1 $\beta$  – interleukin 1 $\beta$



## **1. UVOD**

## 1.1. Kaheksija

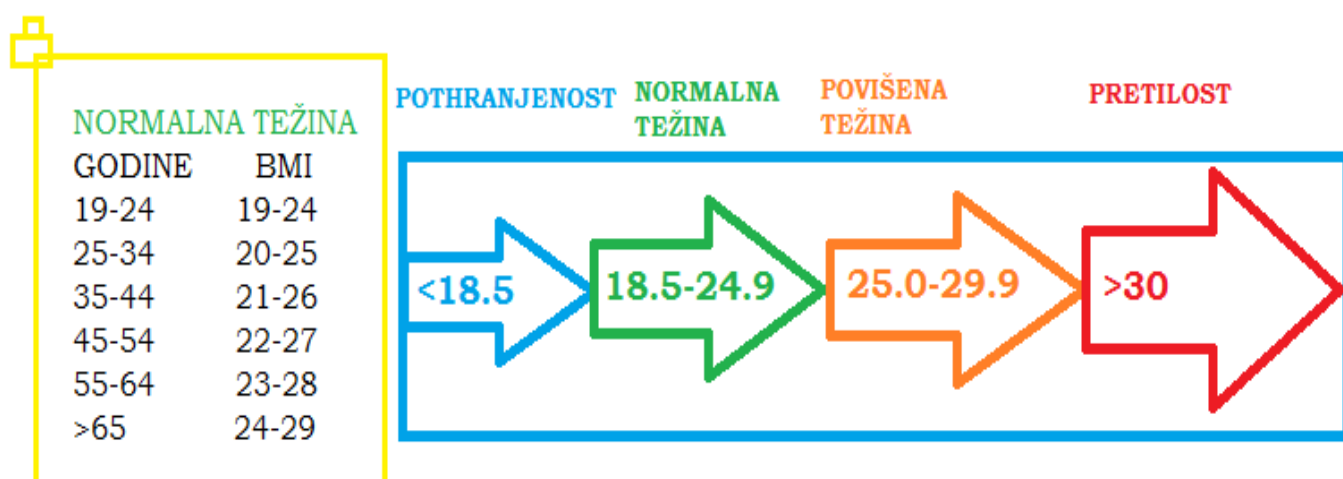
Pojam kaheksija dolazi od grčke riječi *kakos* – loše i *hexis* – stanje i povezan je s kroničnim bolestima ili „posljednjim“ stadijem maligne bolesti (1). Kaheksija je stanje koje uključuje nenamjerni gubitak tjelesne mase (uglavnom skeletalnog mišićja i masnog tkiva) i kroničnu upalu. Naziva se i multifaktorijalnim sindromom jer uzrokuje metaboličke promjene na mnogim tkivima i organima. Kaheksija je jedna od najčešćih manifestacija uznapredovalog stadija maligne bolesti koja vrlo često ostaje neprepoznata i neliječena. Dokazano je da najmanje 20% pacijenata oboljelih od karcinoma umire upravo zbog kaheksije. Postoje varijacije u tipovima karcinoma kod kojih je veća vjerojatnost za njezin nastanak, a najčešće su to karcinom gušterače i želudca (oko 80%), nešto rjeđe karcinom pluća, prostate i kolona (oko 50%), dok oko 40% pacijenata oboljelih od leukemije i karcinoma dojke razvijaju taj sindrom (2,3).

Patogeneza kaheksije poprilično je složena i još se u potpunosti ne znaju točni uzroci njezina nastanka, ali postoje neke teorije. Jedan od razloga za nastanak tumorske kaheksije zasigurno je energetska disbalans. Povećana je potrošnja energije dok je unos smanjen. Energetski balans ovisi o vrsti tumora i fazi rasta u kojoj se on nalazi. S druge strane, pacijenti koji imaju dovoljan kalorijski unos (parenteralno) također razvijaju kaheksiju. Prvenstveno, unos hrane smanjen je zbog promjena koje se događaju na hipotalamusu. Hipotalamus ne može ispravno odgovarati na signale iz periferije zbog disbalansa neuropeptida i pojačane aktivacije sustava melanokortina uzrokovanog citokinima, pa se smanjuje pacijentov apetit. Osim toga, javljaju se promjene u okusu i mirisu, gastroenterološki problemi, mukozitis, mučnina, povraćanje i bolovi. Depresija i loše psihičko stanje nakon saznanja o bolesti također utječu na smanjeni unos hrane.

Za patogenezu kaheksije vrlo su bitni uzroci propadanja mišića i masnog tkiva. Gubitak masnog tkiva nastupa ranije i brže od gubitka mišićne mase. Najprije dolazi do nestajanja visceralne masti trupa, a zatim se gubi masno tkivo udova. Gubitak masti započinje lipolizom, što se povezuje s lučenjem citokina i njihovim djelovanjem. Tijekom gladovanja izvor energije prelazi s glukoze na ketonska tijela podrijetlom iz masti. Tako se smanjuje glukoneogeneza u jetri i čuva mišićna masa. Za razliku od gladovanja, pacijenti s kaheksijom ubrzano gube mišićnu masu te mogu izgubiti i do 75% mase skeletnih mišića. Dokazano je da postoji smanjena sinteza mitohondrijskog ATP-a u skeletnom mišićju, što posljedično dovodi

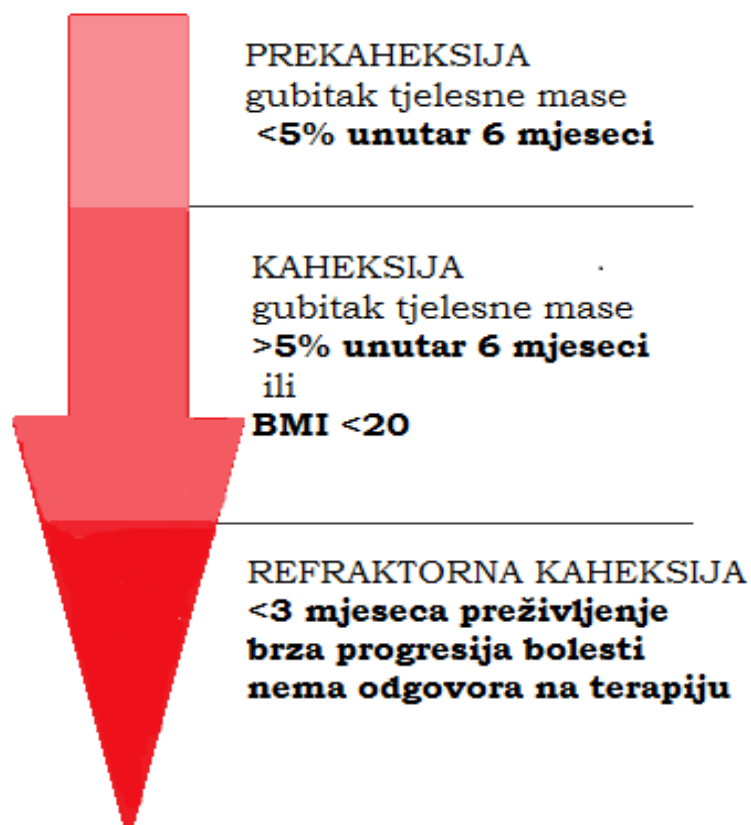
do apoptoze i gubitka miofibrila. Prema novim spoznajama navedeno se događa i zbog izlučivanja medijatora upale od kojih je jedan i interleukin 6. Tumorske stanice i aktivirane imunološke stanice otpuštaju citokine, kemokine i ostale medijatore upale. Ti čimbenici uzrokuju metaboličke abnormalnosti zbog kojih dolazi do propadanja mišićnih i masnih stanica (2,4,5).

Za dijagnozu kaheksije koristi se računanje gubitka tjelesne mase koja mora iznositi više od 5% unutar 6 mjeseci. Indeks tjelesne mase (eng. Body Mass Index, BMI) također je jedan od pokazatelja kaheksije, premda nedovoljno precizan (Slika 1.). Za postavljanje dijagnoze kaheksije BMI mora pasti ispod 20. Tijekom pregleda pacijenta mjeri se debljina kožnih nabora i opseg mišića i ocjenjuje gubitak tjelesne mase i gubitak skeletnog mišićja. Najbitniji mišići su gastrocnemius, vastus lateralis, rectus abdominis i biceps jer su najčešće zahvaćeni tumorskom kaheksijom. Kako bi se upotpunila dijagnostika, potrebno je napraviti hematološke i biokemijske pretrage s posebnim naglaskom na albumin i hematokrit, čije će razine biti smanjene, dok će fibrinogen biti povišen. Od pomoći je i C-reaktivni protein (CRP) koji se dovodi u vezu s gubitkom tjelesne mase i kaheksijom, a povišen je tijekom upale bilo koje etiologije. Kao markeri kaheksije proučavaju se i leptin, grelin i obestatin, ali su prije početka njihove rutinske primjene potrebne dodatne studije. Rana dijagnoza kaheksije ključna je za daljnju terapiju tog kompleksnog sindroma kako bi se pravovremenim liječenjem pacijenta moglo spriječiti upalne procese u organizmu. Jedna od najbitnijih stavki u dijagnostici kaheksije je prepoznati pacijente koji bi mogli razviti sindrom vrlo rano.



Slika 1. Indeks tjelesne mase

Kaheksija ima više razvojnih stupnjeva (Slika 2.). Prekaheksija je prvi razvojni stupanj i očituje se gubitkom tjelesne mase manje od 5% unutar 6 mjeseci. U toj fazi pacijenti mogu primijetiti gubitak težine ponekad i prije nego što je postavljena dijagnoza maligne bolesti. Drugi razvojni stupanj ili kaheksija očituje se gubitkom tjelesne mase više od 5% unutar 6 mjeseci. Posljednji stupanj zove se refraktorna kaheksija. Ona se očituje brзом progresijom bolesti koja ne odgovara na terapiju. Bolesnicima su istrošene rezerve masnog tkiva i uslijedilo je propadanje mišićja te nakon toga nastupa smrt. Kako će kaheksija napredovati ovisi o uspjehu liječenja primarne bolesti, o stupnju, sijelu i vrsti tumora (3,4,5).

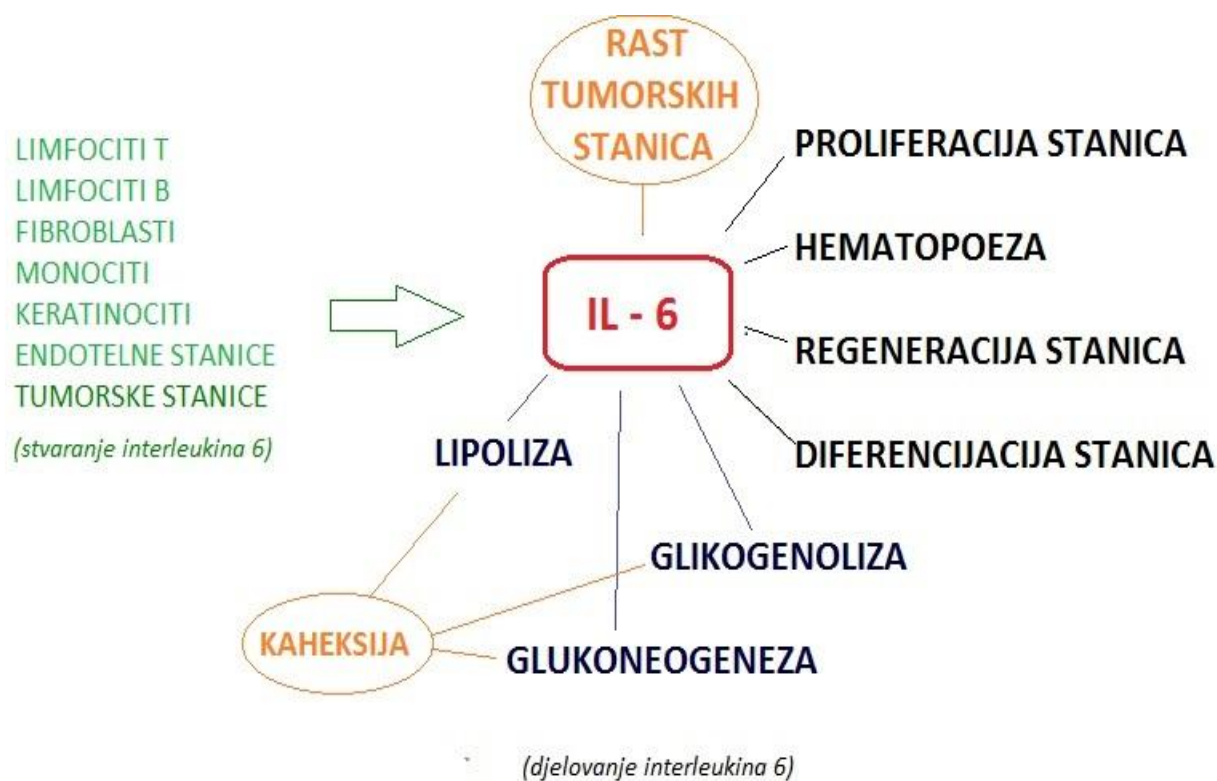


Slika 2. Razvojni stupnjevi kaheksije

Liječenje kaheksije ovisi o fazi bolesti u kojoj se pacijent nalazi. Nastoji se spriječiti gubitak tjelesne i mišićne mase te ih uz pravovremenu dijagnostiku i terapiju povećati. Terapija je teška, a za sada najbolje rezultate ima kombinacija lijekova za stimulaciju apetita (kortikosteroidi, progestageni, THC, grelin) i lijekova za inhibiciju upalnih čimbenika koji potiču kaheksiju (talidomid, nesteroidni protuupalni lijekovi). Također se daju i dodatci prehrani (per os ili parenteralno) kako bi se povećao unos kalorija, a uza sve to vrlo je važna i fizička aktivnost. U uznapredovalom stupnju bolesti najbolja je opcija palijativna njega kako bi se pacijentu olakšali bolovi i posljednji dani života (4).

## **1.2. Interleukin 6**

IL-6 igra bitnu ulogu u razvoju karcinoma i same kaheksije. To je multifunkcionalni protuupalni citokin kojeg proizvode T i B limfociti, fibroblasti, monociti, keratinociti, endotelne i tumorske stanice. Regulira različite fiziološke procese kao što su upala, imunološki odgovor, mehanizam obrane domaćina, hematopoeza i rast stanica. IL-6 potiče proizvodnju proteina akutne faze upale poput CRP-a, što dovodi do jake pirogene aktivnosti. Nadalje, povezan je s proizvodnjom ostalih medijatora upale kao što su citokini, prostaglandini i proteaze. Uloga IL-6 u organizmu višestruka je: potiče proizvodnju proteina tijekom upale, regulira aktivaciju i diferencijaciju limfocita T, stimulira sintezu i sekreciju IgM, IgG i IgA, potiče diferencijaciju makrofaga i megakariocita, potiče rast stanica i sudjeluje u angiogenezi (Slika 3.). IL-6 prenosi svoj signal uz pomoć receptora glikoproteina IL-6R.



Slika 3. Stvaranje i djelovanje interleukina 6

IL-6 je medijator u autoimunim i kroničnim upalnim bolestima kao što su Crohnova bolest, multipla skleroza, Alzheimerova bolest, reumatoidni artritis, dijabetes tipa 2, ateroskleroza i osteoporozna. Budući da sudjeluje u upalnim procesima, dovodi ga se i u vezu s karcinomom. Dokazano je da su njegove vrijednosti povišene u pacijenata oboljelih od maligne bolesti, a pogotovo ga se povezuje s karcinomom pluća, prostate, dojke, gušterače i gastrointestinalnog sustava. Povišene razine IL-6 u serumu indikator su loše prognoze pacijenta, neovisno o kojoj vrsti maligne bolesti se radi. Naime, IL-6 ima bitnu ulogu u progresiji karcinoma jer potiče proliferaciju i diferencijaciju tumorskih stanica, a samim time i nastanak metastaza.

IL-6 jedan je od uzroka nastanka i razvoja kaheksije jer uzrokuje propadanje mišića tako da mijenja metabolizam proteina. Djeluje i na metabolizam lipida i ugljikohidrata povećavajući lipolizu, glikogenolizu i glukoneogenezu. Povezuje ga se i s rezistencijom na kemoterapiju.

Zbog sudjelovanja i poticanja razvoja raznih bolesti nastoji se pronaći odgovarajuća ciljana terapija kojom bi se inhibirao IL-6. Do sada poznati lijekovi koji inhibiraju IL-6 su

kortikosteroidi, nesteroidni protuupalni lijekovi i tetraciklin (4,6). Terapijska inhibicija IL-6 i njegovih signalnih puteva u animalnim modelima učinkovito sprječava nastanak kaheksije potaknute tumorom. Povišene vrijednosti serumskog IL-6 opisane su u kahektičnih pacijenata neovisno o tipu tumora i korelirale su s preživljenjem pacijenata (7,8).

### **1.3. Svrha rada**

Svrha rada bila je ispitati mogućnost korištenja salivarnog IL-6 u dijagnostici i praćenju kaheksije u pacijenata s metastatskom malignom bolešću.

Ciljevi istraživanja bili su sljedeći:

- odrediti koncentraciju IL-6 u slini bolesnika s kaheksijom i bez kaheksije
- odrediti koncentraciju IL-6 u serumu bolesnika s kaheksijom i bez kaheksije
- usporediti serumske i salivarne vrijednosti IL-6 u bolesnika s kaheksijom i bez kaheksije
- usporediti serumske i salivarne vrijednosti IL-6 unutar svake skupine bolesnika.

## **2. ISPITANICI I POSTUPCI**



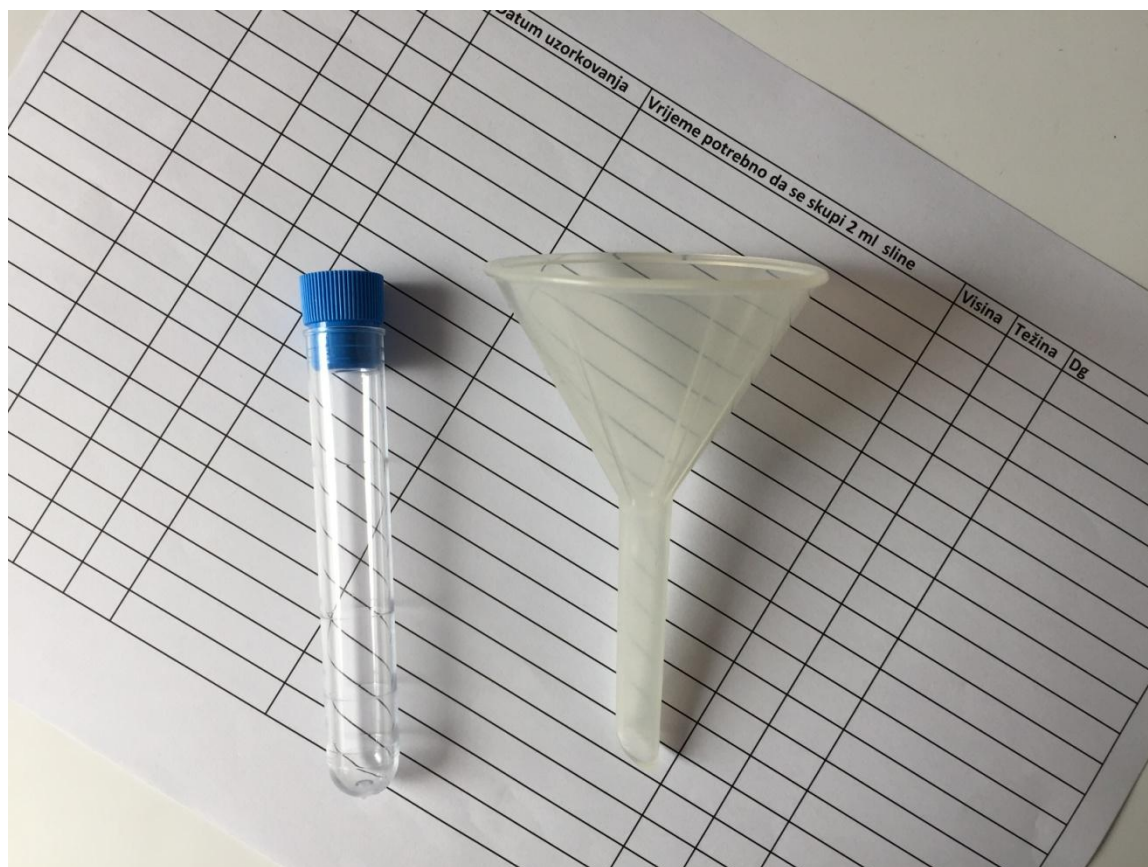
Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Stomatološkog fakulteta u Zagrebu. Ispitanike koji su zadovoljavali kriterije istraživanja obavijestio je nadležni liječnik o svrsi i cilju istraživanja, te su dragovoljno potpisali suglasnost o sudjelovanju. Njihovi podatci dostupni su samo istraživačima.

## **2.1. Probir pacijenata**

Istraživanje je provedeno na Klinici za onkologiju KBC-a Zagreb tijekom 6 mjeseci (veljača – srpanj 2018.) na 37 pacijenata oboljelih od metastatske maligne bolesti. Dijagnoza metastatske maligne bolesti postavljena je na temelju kliničkih, patohistoloških i radioloških kriterija. Kaheksija je dijagnosticirana mjerenjem gubitka tjelesne mase (više od 10%) tijekom 12 mjeseci (podatci o visini i tjelesnoj masi bolesnika bilježeni su na redovitim kontrolama). Pacijenti koji su koristili antibiotik u posljednjih mjesec dana i pacijenti na sistemske kortikosteroidnoj terapiji isključeni su iz istraživanja. Kao kontrolna skupina korišteni su pacijenti koji su imali metastatsku malignu bolest, ali nisu imali kaheksiju.

## **2.2. Prikupljanje uzoraka sline i seruma**

Uzorci nestimulirane sline prikupljeni su metodom pasivnog ispljuvka od 9 do 11 sati. Ispitanici su zamoljeni da ništa ne jedu sat vremena prije prikupljanja uzoraka. Neposredno prije prikupljanja nestimulirane sline u epruvetu, ispitanici su isprali usta vodom i progutali slinu. Sjedeći u uspravnom položaju spontano su izbacivali nakupljenu slinu u plastičnu epruvetu uz pomoć plastičnog lijevka (Slika 4.) dok ne bi skupili 2 ml sline. Bilježeno je vrijeme potrebno za sakupljanje 2 ml sline.



Slika 4. Pribor korišten za prikupljanje uzoraka sline

Uzorci seruma prikupljeni su metodom venepunkcije kubitalne vene prilikom redovitih kontrola bolesnika (Slika 5.).



Slika 5. Pribor korišten za prikupljanje uzoraka seruma

Koncentracije salivarnog i serumskog IL-6 određivane su metodom enzimskog testa (ELISA).

### **2.3. Statistička obrada podataka**

Podatci su organizirani u tablične datoteke (Microsoft Excel, Microsoft Inc. SAD) i statistički obrađeni korištenjem programa SPSS (IBM Inc, SAD). Normalnost distribucije podataka testirana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Ovisno o normalnosti distribucije, za opisivanje podataka, korištene su mjere centralne tendencije (srednja vrijednost i standardna devijacija za normalno distribuirane podatke, medijan, minimum i maksimum za podatke koji nisu bili normalno distribuirani). Za ispitivanje razlika među skupinama korišteni su hi kvadrat test za nominalne te Studentov t-test ili Mann-Whitneyev U test za ordinalne varijable. Vrijednosti manje od 0,05 ( $p < 0,05$ ) smatrale su se statistički značajnima.

### **3. REZULTATI**

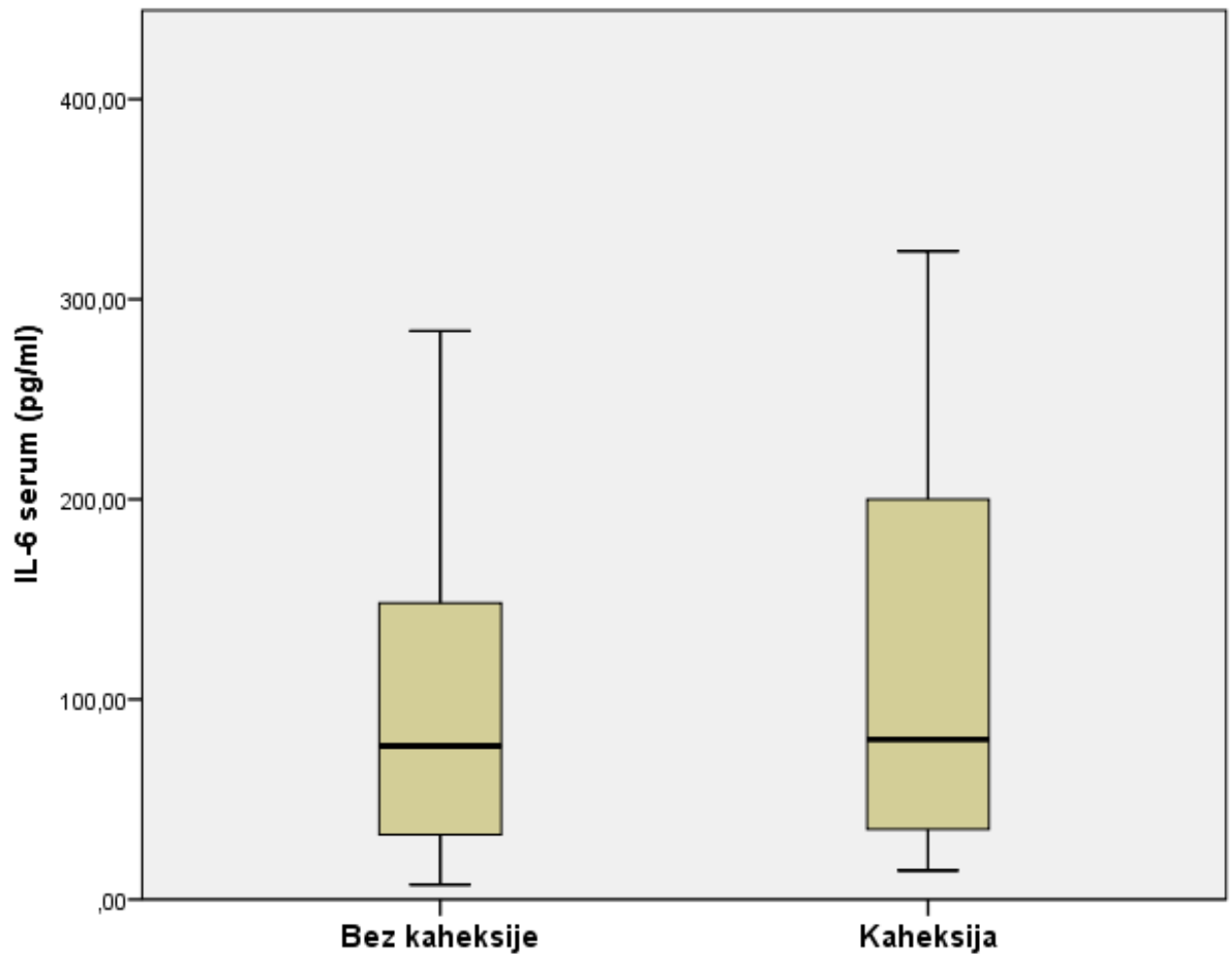
U istraživanju je sudjelovalo 37 ispitanika s metastatskom bolešću prosječne dobi  $61,4 \pm 12,5$  godina. Dijagnoze su bile sljedeće: kolorektalni karcinom (40,54%), karcinom dojke (18,92%), karcinom prostate (8,11%), karcinom želudca (8,11%), sarkom (8,11%), karcinom testisa (2,70%), karcinom jednjaka (2,70%), karcinom jetre (2,70%), nepoznato (2,70%). Deset ispitanika imalo je kaheksiju, dok je 27 ispitanika bilo bez kaheksije i oni su činili kontrolnu skupinu.

Nije utvrđena statistički značajna razlika u distribuciji dobi ni spola između ispitanika s kaheksijom i ispitanika bez kaheksije. Prosječni indeks tjelesne mase iznosio je  $24,9 \pm 5,3$ . Ispitanici s kaheksijom imali su statistički značajno niži indeks tjelesne mase u odnosu na ispitanike bez kaheksije ( $p < 0,0001$ ). Demografske i kliničke karakteristike bolesnika prikazane su u Tablici 1.

Tablica 1. Demografske i kliničke karakteristike ispitanika.

		<b>KAHEKSIJA</b>	<b>BEZ KAHEKSIJE</b>	<b>p</b>
<b>SPOL</b>	<b>Muški</b>	5 (50)	16 (41)	0,716
	<b>Ženski</b>	5 (50)	11 (59)	
<b>DOB</b> (sr. vrijednost ± st.dev)		58,9 ± 11,5	62,2 ± 12,3	0,477
<b>TJELESNA VISINA (cm)</b> (sr. vrijednost ± st.dev)		171,3 ± 8,3	172,3 ± 11,3	0,795
<b>TJELESNA MASA (kg)</b> (sr. vrijednost ± st.dev)		53,2 ± 6,8	81,9 ± 17,1	<b>p &lt;0,0001*</b>
<b>INDEKS TJELESNE MASE</b> (sr. vrijednost ± st.dev)		18,1 ± 1,3	27,4 ± 3,8	<b>p &lt;0,0001*</b>
<b>DIJAGNOZA</b>	<b>Kolorektalni karcinom</b>	4 (40%)	11 (40,74%)	
	<b>Karcinom dojke</b>	3 (30%)	4 (14,82%)	
	<b>Karcinom želuca</b>	1 (10%)	2 (7,41%)	
	<b>Karcinom jednjaka</b>	1 (10%)	0	
	<b>Nepoznato</b>	1 (10%)	0	
	<b>Karcinom prostate</b>	0	3 (11,11%)	
	<b>Karcinom gušterače</b>	0	2 (7,41%)	
	<b>Karcinom testisa</b>	0	1 (3,70%)	
	<b>Karcinom jetre</b>	0	1 (3,70%)	
	<b>Sarkom</b>	0	3 (11,11%)	

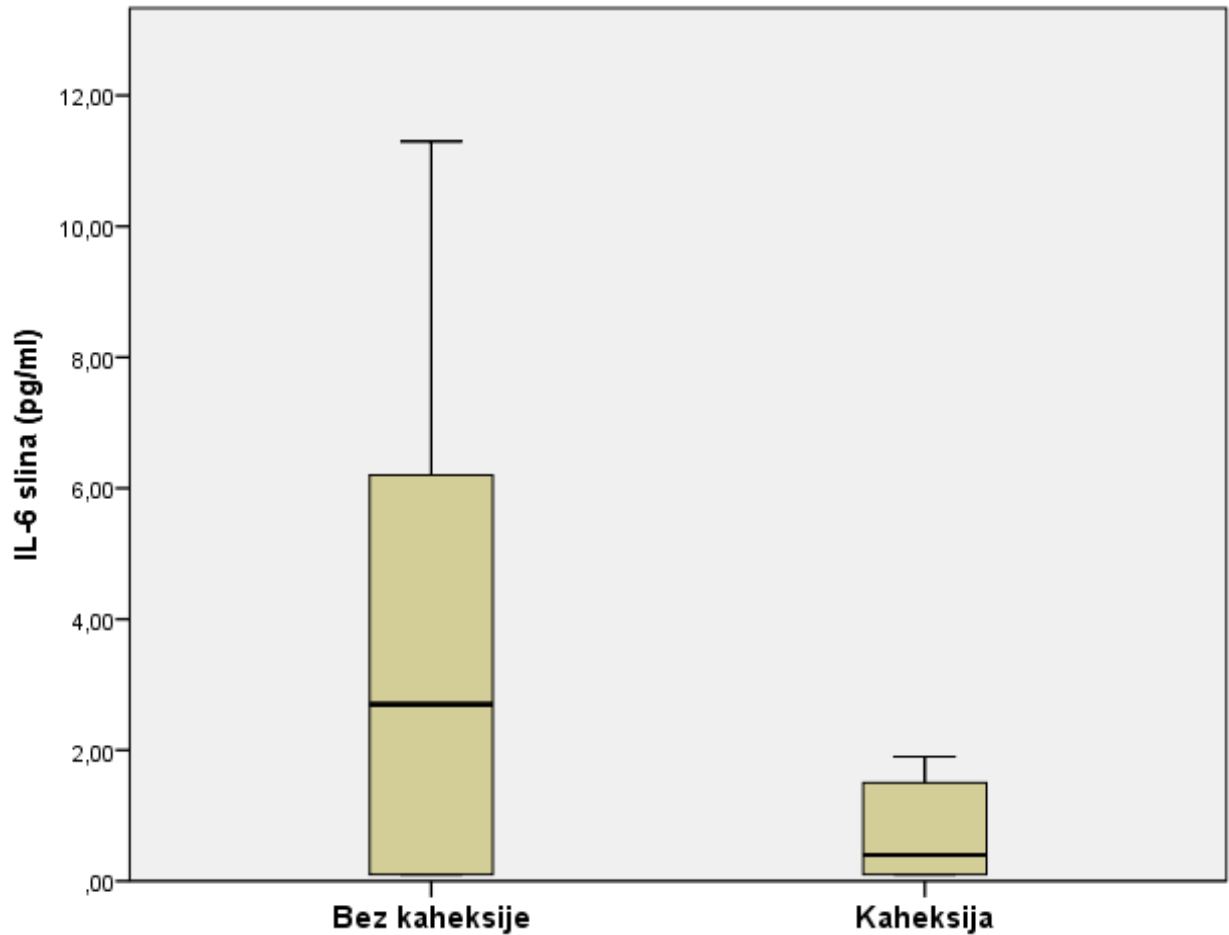
Na Slici 5. prikazane su vrijednosti serumskog interleukina 6 u ispitanika s kaheksijom i ispitanika bez kaheksije. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između dviju skupina (0,928).



Slika 5. Vrijednosti serumskog interleukina 6 u ispitanikas kaheksijom i ispitanika bez kaheksije



Na Slici 6. prikazane su vrijednosti salivarnog interleukina 6 u ispitanika s kaheksijom i ispitanika bez kaheksije. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između dviju skupina (0,145)



Slika 6. Vrijednosti salivarnog interleukina 6 u ispitanika s kaheksijom i ispitanika bez kaheksije

Nisu utvrđene statistički značajne korelacije između serumskih i salivarnih vrijednosti interleukina 6 ni u bolesnika s kaheksijom, niti u bolesnika bez kaheksije (Tablica 2.).

Tablica 2. Korelacija između salivarnih i serumskih vrijednosti interleukina 6 u ispitanika s kaheksijom i ispitanika bez kaheksije.

	Pacijenti s kaheksijom slina	Pacijenti bez kaheksije slina	P
Pacijenti s kaheksijom serum	-0.238		0,188
Pacijenti bez kaheksije serum		-0.278	0.509

#### **4. RASPRAVA**

#### 4.1. Slina kao dijagnostičko sredstvo

U novije vrijeme poseže se za jednostavnijim, bržim i manje invazivnim metodama dijagnostike u koje se ubrajaju krv, urin, slina i ostale tjelesne tekućine. U slini se nalaze proteini, peptidi, hormoni, enzimi i ostale supstance uz pomoć kojih se dobivaju podatci o bolesti i njenoj progresiji (9).

Kao dijagnostičko sredstvo slina nudi mnoge prednosti u odnosu na plazmu. Metoda prikupljanja sline u potpunosti je bezbolna, jeftina i ne zahtijeva školovano osoblje niti posebne mjere kontrole infekcije. Rizik za zarazu infektivnom bolešću putem sline minimalan je. Još jedna od bitnih prednosti je uzimanje uzoraka kod osoba s poteškoćama i anksioznih pacijenata kod kojih bi bilo otežano uzeti uzorak krvi. Lako se sakuplja, ima je u dostatnim količinama i može se koristiti za dijagnostiku šire populacije. Osim toga, bila bi odlično sredstvo za dijagnostiku pacijenata oboljelih od maligne bolesti jer ti bolesnici često boluju od anemije rezistentne na terapiju pa im je samim time vađenje krvi komplicirano i otežano (10, 11).

Slina se u zadnjih 10 godina sve više istražuje, no još uvijek se u potpunosti ne razumiju molekule prisutne u slini. Također, nedostaje sustav detekcije molekula koji je dovoljno osjetljiv na njihove vrijednosti u slini. Pfafe i sur. navode da je negativna strana korištenja sline kao dijagnostičkog sredstva to što molekule prisutne u slini ne reflektiraju uvijek prave vrijednosti kao u serumu.

Slina se može prikupiti stimuliranom ili nestimuliranom metodom. Stimulirana slina prikuplja se tako da se stimulacija postiže žvakanjem parafinske žvakaće ili uz pomoć par kapi kiseline na jezik. Nestimulirana slina prisutna je u usnoj šupljini tijekom 24 sata i stoga daje prave informacije o njezinom sastavu, dok stimulacijom salivacije može doći do promjene njezinog sastava. Williamson i sur. pokazali su da je za mjerenje nekih citokina, uključujući interleukin 6, uzorak nestimulirane sline jednako vrijedan kao uzorak seruma. Pronađene su statistički značajne vrijednosti u usporedbi citokina u slini i u plazmi. Iako se prednost u široj dijagnostici i dalje daje plazmi, za pojedine biomarkere slina bi mogla postati bitno dijagnostičko sredstvo (11,12).

## 4.2. Biomarker interleukin 6

Razina IL-6 u pacijenata oboljelih od malignih bolesti vrlo jednostavno može se izmjeriti u uzorku sline ili seruma. Glavno pitanje u ovoj studiji bilo je mogu li se uz pomoć vrijednosti salivarnog IL-6 razlučiti pacijenti koji imaju kaheksiju te može li se on koristiti kao biomarker. Na temelju rezultata ovog istraživanja može se pretpostaviti da interleukin 6 nije dovoljno senzitivni marker za razlikovanje pacijenata s kaheksijom od pacijenata bez kaheksije jer istraživanje nije pokazalo razliku u vrijednosti IL-6 u usporedbi kahektičnih s nekahektičnim ispitanicima, neovisno o uzorku sline ili plazme.

U istraživanju Holmer i sur. opisana je povezanost IL-6 i kaheksije. Glavni pokazatelj bila je povišena vrijednost serumskog IL-6 u pacijenata oboljelih od karcinoma gušterače koji su razvili kaheksiju. Autori također naglašavaju da povišeni serumski IL-6 ukazuje na lošu prognozu i slabo preživljenje, a povezuje ga se i s nastankom metastaza (13). S druge strane, Scheede-Bergdahl i sur. navode da serumski IL-6 nije dobar pokazatelj kaheksije u bolesnika s uznapredovalom malignom bolešću. Autori zaključuju da su serumske vrijednosti IL-6 povišene u kahektičnih bolesnika, ali i da postoje bolji pokazatelji kaheksije kao što je serumski IL-1 $\beta$ . U navedenoj studiji ispitanici su bili pacijenti u uznapredovalom stadiju karcinoma gastrointestinalnog sustava i karcinoma nemalih stanica pluća (14).

Što se tiče salivarnih vrijednosti IL-6 u nama dostupnoj literaturi nije pronađena studija s kojom bi se mogli usporediti dobiveni rezultati. Iako IL-6 ima serumsko porijeklo jer u slinu dospjeva putem sulkusne tekućine, vrijednosti u slini ne odražavaju vjerno vrijednosti tog citokina u plazmi, što potvrđuje činjenica da ni u jednoj skupini ispitanika nije utvrđena korelacija između serumskih i salivarnih vrijednosti IL-6. Osim dobi i spola, na salivarne vrijednosti IL-6 mogu utjecati stanje parodonta, prisutnost različitih lezija sluznice i druge bolesti (15,16,17,18).

Osim činjenice da IL-6 nije dovoljno osjetljiv marker, uzrok nepostojanju razlika može biti i mali broj ispitanika, a posebno mali broj ispitanika s kaheksijom. Pacijenti koji su razvili kaheksiju obično se nalaze u posljednjem stadiju bolesti, a s obzirom na to da ne postoji razvijeni sustav palijativne skrbi u Republici Hrvatskoj, takvi pacijenti šalju se kućama, ne dolaze na kontrole i teško su dostupni. S obzirom na važnu ulogu koju IL-6 ima u patogenezi kaheksije potrebna su daljnja istraživanja s većim brojem pacijenata kako bi dobiveni rezultati imali statističku pouzdanost.

### 4.3. Indeks tjelesne mase

Indeks tjelesne mase ili BMI dobar je prediktor smrtnosti od karcinoma. Iako je povećani BMI, tj. pretilost povezana s većim rizikom oboljenja od karcinoma, smanjeni BMI povezan je s lošijom prognozom pacijenata koji su već oboljeli od karcinoma (19).

Rezultati istraživanja pokazali su da je prosječni indeks tjelesne mase iznosio  $24,9 \pm 5,3$ . Ispitanici s kaheksijom imali su statistički značajno niži indeks tjelesne mase u odnosu na ispitanike bez kaheksije ( $p < 0,0001$ ). Prema istraživanju Watanabe i sur. smanjeni BMI povezan je s agresivnijim oblicima karcinoma i kraćim preživljenjem. Također, znatno je smanjen i kod pacijenata koji imaju metastaze. Pokazali su da je kaheksija povezana sa sniženim BMI-emi može se koristiti samostalno u predviđanju prognoze, dok BMI ovisi i o ostalim parametrima. Anoreksija – kaheksija sindrom smatra se dobrim prognostičarem preživljenja i prognoze karcinoma (20).

Pretilo osobe, a pogotovo one koje imaju povećano visceralno masno tkivo imaju predispozicije za nastanak bolesti, te im je povećana smrtnost. Povećano visceralno masno tkivo povezano je s upalom, metaboličkim poremećajima, gubitkom mišićne mase i većim rizikom za nastanak kardiovaskularnih bolesti. Zbog toga osobe s povišenim BMI-em imaju slabije prognoze kada obole od maligne bolesti. Naime, upravo visceralna mast poticanjem gubitka mišićne mase uzrokuje i ubrzava nastanak kaheksije. Dokazano je da je pretilost glavni čimbenik u velikoj smrtnosti osoba oboljelih od karcinoma gušterače i ne koristi kao zaštitni mehanizam kao što se prije smatralo (21).

Studija nije pokazala velike razlike u indeksu tjelesne mase oboljelih od kaheksije po spolu (muški 18,42, žene 17,7) jer je uzorak kahektičnih ispitanika bio malen, no prema istraživanju Solheim i sur. pokazano je da su muški pacijenti oboljeli od karcinoma imali veći gubitak tjelesne mase, dok je gubitak tjelesne mase veći i kod bolesnika na kemoterapiji (22).

## **5. ZAKLJUČAK**

Na temelju provedenog istraživanja moguće je zaključiti sljedeće:

Nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji salivarnog IL-6 između bolesnika s kaheksijom i bolesnika bez kaheksije.

Nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji serumskog IL-6 između bolesnika s kaheksijom i bolesnika bez kaheksije.

Salivarne i serumske vrijednosti IL 6 ni u jednoj od skupina nisu bile u međusobnoj korelaciji.

Uzevši u obzir sva ograničenja, rezultati ovog istraživanja ukazuju da ni salivarni ni serumski IL-6 nije dovoljno osjetljiv marker za dijagnozu kaheksije u onkoloških bolesnika. Potrebna su daljnja istraživanja sa znatno većim brojem ispitanika.



## **6. LITERATURA**

1. Mendes MC, Pimentel GD, Costa FO, Carvalheira JB. Molecular and neuroendocrine mechanisms of cancer cachexia. *J Endocrinol.* 2015;226(3):R29-43
2. Argilés JM, Busquets S, Stemmler B, López-Soriano FJ. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(11):754-62
3. Meriggi F. Cancer Cachexia: One Step Ahead. *Rev Recent Clin Trials.* 2015;10(3):246-50
4. Mondello P, Mian M, Aloisi C, Famà F, Mondello S, Pitini V. Cancer cachexia syndrome: pathogenesis, diagnosis, and new therapeutic options. *Nutr Cancer.* 2015;67(1):12-26.
5. Fearon KC. Cancer cachexia and fat-muscle physiology. *N Engl J Med.* 2011 ;365(6):565-7
6. Ataie-Kachoie P, Pourgholami MH, Richardson DR, Morris DL. Gene of the month: Interleukin 6 (IL-6). *J Clin Pathol.* 2014;67(11):932-7.
7. Miller A, McLeod L, Alhayyani S, Szczepny A, Watkins DN1, Chen W, et al. Blockade of the IL-6 trans-signalling/STAT3 axis suppresses cachexia in Kras-induced lung adenocarcinoma. *Oncogene.* 2017;36(21):3059-3066.
8. Narsale AA, Carson JA. Role of interleukin-6 in cachexia: therapeutic implications. *Curr Opin Support Palliat Care.* 2014;8(4):321-7.
9. Sahibzada HA, Khurshid Z, Khan RS, Naseem M, Siddique KM, Mali M, Zafar MS. Salivary IL-8, IL-6 and TNF- $\alpha$  as Potential Diagnostic Biomarkers for Oral Cancer. *Diagnostics (Basel).* 2017 ;7(2)
10. Panneer Selvam N, Sadaksharam J. Salivary interleukin-6 in the detection of oral cancer and precancer. *Asia Pac J Clin Oncol.* 2015;11(3):236-41
11. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. *Clin Chem.* Diagnostic potential of saliva: current state and future applications . 2011 ;57(5):675-87.

12. Williamson S, Munro C, Pickler R, Grap MJ, Elswick RK Jr. Comparison of biomarkers in blood and saliva in healthy adults. *Nurs Res Pract.* 2012;2012:246178.
13. Holmer R, Goumas FA, Waetzig GH, Rose-John S, Kalthoff H. Interleukin-6: a villain in the drama of pancreatic cancer development and progression. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2014;13(4):371-80.
14. Scheede-Bergdahl C, Watt HL, Trutschnigg B, Kilgour RD, Haggarty A, Lucar E, Vigano A. Is IL-6 the best pro-inflammatory biomarker of clinical outcomes of cancer cachexia? *Clin Nutr.* 2012;31(1):85-8.
15. Javed F, Ahmed HB, Saeed A, Mehmood A, Bain C. Whole salivary interleukin-6 and matrix metalloproteinase-8 levels in patients with chronic periodontitis with and without prediabetes. *J Periodontol.* 2014;85(5):e130-5.
16. Batool H, Nadeem A2, Kashif M3, Shahzad F2, Tahir R2, Afzal N2. Salivary Levels of IL-6 and IL-17 Could Be an Indicator of Disease Severity in Patients with Calculus Associated Chronic Periodontitis. *BiomedResInt.* 2018;2018:8531961.
17. Stanescu II, Calenic B, Dima A, Gugoasa LA, Balanescu E, Stefan-van Staden RI, Baicus C, Badita DG, Greabu M. Salivary biomarkers of inflammation in systemic lupus erythematosus. *Ann Anat.* 2018;219:89-93.
18. Boras VV, Lukac J, Brailo V, Picek P, Kordić D, Zilić IA. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients with recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med.* 2006;35(4):241-3.
19. Taghizadeh N, Boezen HM, Schouten JP, Schröder CP, Elisabeth de Vries EG, Vonk JM. BMI and lifetime changes in BMI and cancer mortality risk. *PLoS One.* 2015;10(4):e0125261.
20. Watanabe D, Horiguchi A, Tasaki S, Kuroda K, Sato A, Asakuma J, Ito K, Asano T. Impact of body mass index on clinicopathological outcomes in patients with renal cell carcinoma without anorexia-cachexia syndrome. *Mol Clin Oncol.* 2018;8(1):47-53

21. Solheim TS, Blum D, Fayers PM, Hjerstad MJ, Stene GB, Strasser F, Kaasa S. Weight loss, appetite loss and food intake in cancer patients with cancer cachexia: three peas in a pod? - analysis from a multicenter cross sectional study. *Acta Oncol.* 2014 ;53(4):539-46

22. Dalal S, Hui D, Bidaut L, Lem K, Del Fabbro E, Crane C, Reyes-Gibby CC, Bedi D, Bruera E. Relationships among body mass index, longitudinal body composition alterations, and survival in patients with locally advanced pancreatic cancer receiving chemoradiation: a pilot study. *J Pain Symptom Manage.* 2012 ;44(2):181-91.

## **7. ŽIVOTOPIS**

Tea Hećimović rođena je 28.6.1993. u Zagrebu. Pohađala je Osnovnu školu Rudeš, a zatim upisuje VII. gimnaziju. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja, 2010. godine, odlazi na razmjenu učenika u Sendai u Japanu. Stomatološki fakultet u Zagrebu upisuje 2012. godine i redovno ga završava 2018. Tijekom fakultetskog obrazovanja asistira u ordinaciji dentalne medicine i radi na brojnim studentskim poslovima. U slobodno vrijeme bavi se Crossfitom, planinarenjem i slikanjem, a posebno voli putovati, pa stoga uči brojne strane jezike.