Rola wybranych parametrów biochemicznych w przewidywaniu zmian histopatologicznych w 24. i 48. godzinie od wystąpienia ostrego zapalenia trzustki

JACEK BAJ, IWONA ŁUSZCZEWSKA-SIERAKOWSKA, ELŻBIETA RADZIKOWSKA*, JACEK SOMPOR**, MARCIN MACIEJEWSKI***, ANDRZEJ DĄBROWSKI****

Zakład Anatomii Prawidłowej, Katedra Anatomii Człowieka, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin

*Oddział Chirurgii Plastycznej, Centralny Szpital Kliniczny MSWiA w Warszawie, ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa

**Katedra i Klinika Chirurgii Urazowej i Medycyny Ratunkowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
ul. Staszica 16 (SPSK Nr 1), 20-081 Lublin

***Instytut Elektroniki i Technik Informacyjnych, Politechnika Lubelska, ul. Nadbystrzycka 38A, 20-618 Lublin

****II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Nowotworów Układu Pokarmowego,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Staszica 16 (SPSK Nr 1), 20-081 Lublin

Otrzymano 03.08.2017

Zaakceptowano 03.10.2018

Baj J., Łuszczewska-Sierakowska I., Radzikowska E., Sompór J., Maciejewski M., Dąbrowski A.
Role of biochemical parameters in predicting histopathological changes at 24 and 48 hours from acute pancreatitis induction

Summary

The aim of the study was to assess the relationships between the degree of changes in concentrations of the biochemical indicators in serum such as: creatinine, uric acid, total bilirubin, aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), lipase, amylase, glucose, iron and magnesium, and histopathological lesions occurring in the pancreas within 24 and 48 hours from the induction of acute pancreatitis (AP). An attempt was made to assess the relation between the changes in concentrations of biochemical indicators and the enhancement of histological lesions in the pancreas based on Spormann score. In the experimental model, the laboratory and histological changes in the 24th hour from administration of taurocholan correspond to the seventh day of the disease in humans. Experiments were conducted on 55 male Wistar rats weighing from 250 g to 300 g. The animals were divided into three groups: Z – a group serving to establish the ranges of studied factors and histological structure; K – a group of animals operated on which were injected with 0.9% NaCl into the biliary-pancreatic duct; E – a group of animals operated on in which acute pancreatitis was induced by an injection of 5% sodium taurocholate into the biliary-pancreatic duct. The material for biochemical and histological examinations was collected after 24 and 48 hours from the induction of AP. Whole pancreases were dissected for histological examinations and the samples were dyed with hematoxylin and saturated alcoholic eosin solution. The degree of pancreatic lesions was assessed according to the Spormann score. Quantitative variables were characterised by arithmetic mean, standard deviation, median, minimum and maximum value and 95% CI. After administration of 0.9% NaCl in the K group, foci of purulent inflammation in the fatty tissue of the pancreas and minor foci of Balser's necrosis appeared. In the E group, after injection of 5% sodium taurocholate into the biliary-pancreatic duct, more intense lesions were observed: foci of fatty tissue necrosis, hemorrhagic necrosis, multifocal fatty tissue necrosis and inflammatory infiltration. The model was developed in order to assess histological lesions, indicating the character of AP, taking into account edema, inflammatory infiltration, fatty tissue necrosis, glandular necrosis, and ecchymoses. In the period of 24 hours, statistically significant differences between the K group and E group were observed for creatinine, total bilirubin, ALT, lipase, amylase, iron and magnesium, while in the period of 48 hours, statistically significant differences were observed for total bilirubin and ALT. In the group E, in the period of 24 hours concentrations of creatinine, total bilirubin, ALT, lipase, amylase and magnesium were significantly higher than in the group K, but concentrations of iron were significantly lower. In the period of 48 hours, in the E group total bilirubin was significantly lower and ALT was significantly higher than in the K group. In the E group, the intensity of pancreatitis increased

together with an increase in ALT concentration in the period of 24 hours; in the period of 48 hours, the intensity of pancreatitis increased together with a decrease in ALT in the E group. In the K group, in the period of 48 hours, intensity of fatty tissue necrosis increased together with a decrease in ALT level. In the period of 48 hours, in the E group intensity of glandular necrosis increased together with a decrease in total bilirubin and AST concentration. In the E group, in the period of 24 hours intensity of edema increased together with an increase in magnesium level. In the period of 48 hours, in the E group intensity of glandular necrosis increased together with a decrease in magnesium or AST level, and the intensity of lesions in the form of ecchymoses increased together with an increase in glucose level. Histopathological lesions occurred prior to changes in laboratory test results, whereas significant correlations with the Spormann score concerned changes in: total bilirubin, AST, ALT, glucose and magnesium. The use of regression analysis with the Spormann score shows statistically significant differences for most of the biochemical parameters in the period of 24 hours correspond to the seventh day of the disease in humans. The presented study results confirm the fact that diagnostics of acute pancreatitis is very difficult and requires monitoring of many laboratory parameters. A search is still going on for an ideal marker of AP which would enable an early prognosis of the progress of the disease and the confirmation of its etiology. A discovery of a simple marker which is cheap to use may turn out to be useful if it is confirmed in prospective studies. The current state of knowledge based on scientific and clinical findings makes it possible to apply interdisciplinary clinical procedures based on matching appropriate laboratory and radiological tests, and on implementing therapeutic procedures.

Keywords: acute pancreatitis, sodium taurocholate, Spormann score

Różne czynniki wywołujące OZT prowadzą do powstania ostrej reakcji zapalnej, która powoduje uszkodzenie trzustki czy szereg powikłań ogólnoustrojowych, lecz szczegółowe mechanizmy wewnętrzne i sposób ich działania, jak również ich wpływ na rozwój choroby wciąż są nieznane. U ponad 80% pacjentów z rozpoznaniem OZT przebieg choroby jest łagodny, wymagający leczenia wspomagającego: znieczulenia, suplementacji płynami, zaprzestania żywienia dojelitowego. U pozostałych ok. 20% pacjentów rozwija się ciężka postać OZT i jest to grupa chorych wysokiego ryzyka rozwoju martwicy trzustki, która może doprowadzić do powikłań ogólnoustrojowych, cechujących się śmiertelnością wynoszącą nawet 30% (11). Wczesne rozpoznanie i właściwa diagnoza, ocena ciężkości i prognozowanie dalszego rozwoju OZT, są ważnymi elementami dla dalszej terapii. Oddzielenie chorych z łagodną postacią od chorych wymagających opieki na oddziałach intensywnej terapii jest kluczowym elementem.

Najpowszechniej stosowanym markerem w celu rozpoznania OZT, ze względu na swoją dostępność i niską cenę, jest pomiar aktywności amylazy. Wadą pomiaru amylazy jest niska czułość i specyficzność oraz konieczność pomiaru w ciągu od 48 do 72 godzin od wystąpienia objawów, kiedy to amylaza osiąga najwyższe stężenie. Występujące przy pomiarze aktywności amylazy fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne wyniki, mogą stworzyć problem podczas diagnostyki OZT. Badanie poziomu aktywności amylazy jest przydatne w początkowej fazie choroby i ma małą korelację z jej ciężkością. Wyższą czułością i specyficznością charakteryzuje się lipaza, której szczyt aktywności powstaje w ciągu 4-8 godzin od powstania objawów OZT, a podwyższone stężenia utrzymują się przez 1-2 tygodni (13). Stężenia amylazy i lipazy nie mają zna-

czenia w określaniu czy choroba ma charakter łagodny, umiarkowany czy ciężki ani w określaniu przewidywania powikłań bądź rokowań w rozpoznanym już OZT (19).

Określenie stężeń enzymów wątrobowych: fosfatazy alkalicznej, bilirubiny całkowitej, aminotransferazy asparaginianowej i aminotransferazy alaninowej są pomocne w ustaleniu OZT o etiologii kamiczej. Gwałtowny wzrost stężeń enzymów wątrobowych w żółciowym OZT na początku choroby i szybki ich spadek w ciągu kolejnych 1-2 dni jest bardzo typowym zjawiskiem. Dłużej utrzymujące się wysokie stężenia enzymów wątrobowych mogą świadczyć o obturacji przewodu żółciowego (6, 20). Najbardziej użytecznym klinicznie parametrem jest poziom stężeń aminotransferazy alaninowej. Jego poziom stężeń równy lub wyższy niż 150 IU/L (około 3-krotne wyższe stężenie niż prawidłowe) wraz z podwyższonymi stężeniami amylazy i lipazy sugerują przyczynę kamieni żółciowych w OZT. Zastosowanie pomiaru poziomu aminotransferazy alaninowej ma dodatnią wartość predykcyjną, która wynosi 95% w podejrzeniu etiologii kamiczej OZT (27). Poziom stężeń bilirubiny jest jednym z najbardziej wiarygodnych testów pozwalających różnicować postać kamiczą OZT od innych przyczyn. Jednak zaobserwowano, że 10-15% pacjentów, u których rozpoznano OZT o etiologii żółciowej przy przyjęciu do szpitala, posiadało prawidłowe poziomy bilirubiny i aminotransferazy alaninowej (7).

Obecnie uważa się, że wyznacznikiem stopnia zaawansowania OZT nie jest martwica trzustki, lecz niewydolność wielonarządowa (3). U pacjentów, u których wystąpiła niewydolność wielonarządowa, śmiertelność dochodzi do prawie 50%, a w przypadku braku uszkodzeń narządów – niezależnie od występowania martwicy trzustki – śmiertelność w tej grupie jest na poziomie 0% (4, 8). Nie wykazano bezpośredniej korelacji pomiędzy obecnością martwicy

i jej zakażeniem a ryzykiem rozwoju niewydolności wielonarządowej (10).

W OZT o etiologii alkoholowej martwica występuje częściej, niż w pozostałych etiologiach (9). Aminotransferaza alaninowa (ALT) jest jednym z czynników predykcyjnych – wyższe wartości są prognostyczne dla łagodnych postaci OZT. Wyższe wartości ALT są widoczne w OZT o etiologii żółciowej, niż o etiologii alkoholowej (17).

Celem badań było określenie zależności pomiędzy stopniem zmiany poziomów wskaźników biochemicznych: kreatyniny, kwasu moczowego, bilirubiny, AST, ALT, lipazy, amylazy, glukozy, żelaza i magnezu w surowicy, a zmianami histologicznymi zachodzącymi w trzustce w 24. i 48. godzinie od wystąpienia ostrego zapalenia trzustki (OZT). W doświadczeniu własnym użyto modelu eksperymentalnego opracowanego przez Aho i Heinkela, wykorzystującego sól żółciową, jaką jest taurocholan sodu (1, 2). Ostre zapalenia trzustki wywołane w ten sposób charakteryzują się szybkim (w ciągu 12-24 godzin) przebiegiem procesów patologicznych. Stosowane modele doświadczalne bazują na różnych mechanizmach patofizjologicznych, które mają zbliżony efekt do zmian jakie zachodzą w organizmie człowieka w przebiegu OZT. Wytworzone w ten sposób zmiany, takie jak: obrzęk, martwica, zmiany krwotoczne, są podobne do obserwowanych – spowodowanych kamicą żółciową (1, 16).

Materiał i metody

Badania zostały przeprowadzone na 55 szczurach rasy Wistar, ważących od 250 do 300 g. Procedury modelu doświadczalnego przeprowadzono w oparciu o zgodę Lokalnej Komisji Etycznej w Uniwersytecie Medycznym w Lublinie ds. Badań na Żywych Kręgowcach (nr zgody 33/2000). Zwierzęta zostały podzielone na trzy grupy: Z – grupa do wyznaczenia zakresów norm badanych parametrów i struktur histologicznych (15 zwierząt), K – grupa szczurów, którym podano 0,9% NaCl do przewodu żółciowo-trzustkowego (20 zwierząt), E – zwierzęta, u których indukowano OZT poprzez iniekcję 5% taurocholanu sodu do przewodu żółciowo-trzustkowego (20 zwierząt).

Następnie zwierzęta losowo przydzielono do podgrup, z których pobierano materiał do badań biochemicznych i histologicznych w 24. i 48. godzinie od indukcji OZT. Ostre, doświadczalne zapalenie trzustki wywoływano metodą Heinkela i Aho z wykorzystaniem roztworu taurocholanu sodu (1, 2). Krew do badań biochemicznych pobierano z lewej komory na bijącym sercu. Trzustki wypreparowywano w całości do badań histologicznych, a pobrane tkaniny utrwalano przez 3 dni w 10% roztworze zobojętnionej formaliny, a następnie poddano płukaniu przez 4 godziny. Pobrane wycinki odwadniano, przeprowadzając przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu, po czym prześwietlano je w ksylenu przez 10-15 min. Uzyskane próbki barwiono hematoksyliną i eozyną w nasyconym roztworze alkoholowym. Ocenę preparatów oraz dokumentację fotograficzną wykonano w mikroskopie świetlnym Jenalumar firmy Zeiss. W ocenie zmian histologicznych korzystano

Tab. 1. Ocena nasilenia zmian histologicznych wg Spormanna

Rodzaj zmiany	Nasilenie zmiany	Punkty
Obrzęk	umiarkowany	1
	średni	2
	duży	3
Naciek zapalny	umiarkowany	1
	średni	2
	duży	3
Martwica tłuszczowa	< 2/wycinek	3
	3-5/wycinek	5
	> 5/wycinek	7
Martwica gruczołowa	ogniskowa (< 5%)	3
	lub podzrazikowa (< 20%)	5
	lub zrazikowa (> 20%)	7
Wylewy krwawe	umiarkowane	3
	średnie	5
	duże	7

ze skali opracowanej przez Spormanna, uwzględniającej obrzęk, naciek zapalny, martwicę tkanki tłuszczowej, martwicę gruczołową oraz wylewy krwawe (14, 15). Każdemu rodzajowi zmian były przypisywane punkty w zależności od ich nasilenia (tab. 1).

Analiza statystyczna. Do analiz statystycznych wykorzystano pakiet StatSoft Inc., Statistica i arkusz kalkulacyjny Excel. Zmienne ilościowe zostały scharakteryzowane za pomocą średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego, mediany, wartości minimalnej i maksymalnej (zakres) oraz 95% CI (przedział ufności). Przedział ufności przedstawiono dla średniej. Natomiast zmienne typu jakościowego zostały przedstawione za pomocą licznosci oraz wartości procentowych (odsetka).

W celu sprawdzenia, czy zmienna ilościowa pochodziła z populacji o rozkładzie normalnym, użyto testu W Shapiro-Wilka, a do sprawdzenia hipotezy o równych wariancjach wykorzystano test Levena (Browna-Forsythe'a). Istotność różnic pomiędzy dwoma grupami (model zmiennych niepowiązanych) zbadano testami istotności różnic: t-Studenta (lub w przypadku braku homogeniczności wariancji test Welch) lub U Manna-Whitneya (w przypadku niespełnienia warunków stosowalności testu t-Studenta lub dla zmiennych zmierzonych na skali porządkowej). Istotność różnic pomiędzy więcej niż dwoma grupami sprawdzono testem F (ANOVA) lub Kruskala-Wallisa (w przypadku niespełnienia warunków stosowalności ANOVA). W przypadku otrzymania istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami zastosowano testy *post hoc* (dla F test Tukeya, dla Kruskala-Wallisa test Dunna). W celu stwierdzenia powiązania siły oraz kierunku między zmiennymi zastosowano analizę korelacji obliczając współczynniki korelacji Pearsona lub Spearmana. Wykorzystano analizę regresji do znalezienia zestawów markerów istotnych statystycznie, które wpływają na nasilenie zmian w ostrym zapaleniu trzustki. We wszystkich obliczeniach za poziom istotności przyjęto $p = 0,05$.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, porównując dane pomiędzy grupą doświadczalną a kontrolną, dla

poszczególnych wskaźników biochemicznych w odpowiednich przedziałach czasu. Korelacje oceny histologicznej według Spormanna i wskaźników biochemicznych porównano dla grup po podaniu NaCl (K) i taurocholanu (E), a przedstawiono dla poszczególnych markerów biochemicznych.

Ocenie histologicznej poddano materiał pobrany z grupy zwierząt zdrowych – nieoperowanych (Z), grupy zwierząt kontrolnych – operowanych, po podaniu 0,9% NaCl (K) oraz grupy zwierząt eksperymentalnych – operowanych, po podaniu taurocholanu (E) w 24. i 48. godzinie od indukcji OZT.

Przedstawiono również korelacje pomiędzy poszczególnymi markerami w grupach doświadczalnych dla poszczególnych zmian histologicznych. Wyniki analizy regresji – wszystkie efekty, przeprowadzono w celu znalezienia takiego zestawu wskaźników biochemicznych istotnych statystycznie, które mają wpływ na nasilenie zmian w ostrym zapaleniu trzustki.

Wyniki i omówienie

Po otwarciu jamy brzusznej w grupie kontrolnej (K) i eksperymentalnej (E) obserwowano rozległe zmiany martwicze obejmujące znaczną część powierzchni zewnętrznej trzustki oraz tkanki okołotrzustkowej. Podtorebkowo widoczne były wylewy krwawe. W obrębie krezki jelita cienkiego i grubego narastały zmiany martwicze, początkowo w postaci nieprzejrzystych, suchych plam. W jamie otrzewnowej stwierdzono obecność mętnego płynu, z czasem coraz bardziej brunatnego.

Wyniki analiz poziomów aktywności wskaźników biochemicznych w surowicy krwi dla grupy zwierząt nieoperowanych (Z) przedstawiono w tab. 2. W preparatach histologicznych grupy Z nie odnotowano zmian, które odbiegałyby od obrazów prawidłowych. Suma punktów wg skali Spormanna wynosiła 0 dla pojedynczego szkiełka (tab. 3).

W grupie kontrolnej (K) w 24. godzinie zaobserwowano nasilenie zmian w postaci obecności drobnych ognisk martwicy w tkance tłuszczowej okołotrzustkowej, skupisk granulocytów i limfocytów wokół martwicy oraz drobnych ognisk wybroczyn krwawych (ryc. 1). Widoczne były liczne drobne ogniska zapalenia ropnego w tkance tłuszczowej (ryc. 2). Suma punktów wg skali Spormanna wynosiła dla pojedynczego preparatu mikroskopijnego od 5 do 9 (tab. 3).

W grupie kontrolnej (K) w 48. godzinie obserwowane zmiany nieznacznie różniły się od zmian stwierdzonych w 24. godzinie, a suma punktów wg skali Spormanna w pojedynczym szkiełku mieściła się w granicach od 5 do 10 (tab. 3).

W grupie eksperymentalnej (E) w 24. godzinie w obrazie makroskopowym jamy brzusznej dominowały ogniska martwicy, wylewy krwawe i wysięk. W obrazie mikroskopowym stwierdzono obecność bardziej rozległych ognisk martwicy tkanki tłuszczowej, duże ogniska martwicy krwotocznej, wielogniskowe zapalenie ropne znacznie nasilone oraz wybroczyny

Tab. 2. Charakterystyka podstawowa wskaźników biochemicznych grupy Z do wyznaczenia zakresów norm badanych parametrów i struktur histologicznych

Grupa Z			
Kreatynina		Lipaza	
śr. ± od. stand.	0,51 ± 0,05	śr. ± od. stand.	109,85 ± 240,03
zakres	0,42-0,59	zakres	10,00-810,00
mediana	0,54	mediana	31,00
95% CI	[0,49; 0,54]	95% CI	[0,00; 222,19]
Kwas moczowy		Amylaza	
śr. ± od. stand.	1,03 ± 0,55	śr. ± od. stand.	1078,30 ± 179,94
zakres	0,28-2,52	zakres	756,00-1423,00
mediana	0,91	mediana	1 105,00
95% CI	[0,77; 1,28]	95% CI	[994,08; 1162,52]
Bilirubina całkowita		Glukoza	
śr. ± od. stand.	0,19 ± 0,09	śr. ± od. stand.	116,25 ± 39,12
zakres	0,13-0,55	zakres	1,00-178,00
mediana	0,17	mediana	110,50
95% CI	[0,15; 0,23]	95% CI	[97,94; 134,56]
AST		Żelazo	
śr. ± od. stand.	178,75 ± 41,45	śr. ± od. stand.	243,85 ± 53,66
zakres	106,00-247,00	zakres	168,00-390,00
mediana	182,00	mediana	230,50
95% CI	[159,35; 198,15]	95% CI	[218,74; 268,96]
ALT		Magnez	
śr. ± od. stand.	135,10 ± 38,86	śr. ± od. stand.	1,37 ± 0,27
zakres	66,00-247,00	zakres	0,41-1,61
mediana	133,50	mediana	1,44
95% CI	[116,91; 153,29]	95% CI	[1,25; 1,50]

Tab. 3. Punktacja dla poszczególnych grup według skali Spormanna

Czas (godz.)	Zakres punktacji dla pojedynczej oceny histologicznej	Suma punktów
Grupa Z		
	0 pkt	0
Grupa K		
24.	od 5 do 9 pkt	36
48.	od 5 do 10 pkt	40
Grupa E		
24.	od 8 do 18 pkt	96
48.	od 12 do 20 pkt	124

krwawe w tkance łącznej i tłuszczowej śródmiąższu trzustki (ryc. 3). Suma punktów wg skali Spormanna wynosiła dla pojedynczego badanego szczura od 8 do 18 (tab. 3).

W grupie eksperymentalnej (E) w 48. godzinie makroskopowo obserwowano nasilające się zmiany, liczne zrosty, wysięk w jamie otrzewnowej oraz rozszerzone pętle jelita cienkiego, sugerujące niedrożność. W obrazie mikroskopowym trzustki zauważono

Ryc. 1. Ogniska wybroczyn krwawych z nagromadzeniem granulocytów i limfocytów w tkance tłuszczowej. Ognisko martwicy tkanki tłuszczowej. Barwienie H + E, pow. 200 ×

Ryc. 2. Ogniska zapalenia ropnego w tkance tłuszczowej. Barwienie H + E, pow. 200 ×

Ryc. 3. Zapalenie ropne z licznymi wybroczynami krwawymi w tkance łącznej oraz tłuszczowej śródmiaższu trzustki. Barwienie H + E, pow. 200 ×

Ryc. 4. Liczne granulocyty, limfocyty i makrofagi w śródmiaższu trzustki. Barwienie H + E, pow. 200 ×

Ryc. 5. Ogniska martwicy krwotocznej w tkance śródmiaższowej trzustki. Barwienie H + E, pow. 200 ×

Ryc. 6. Rozległe ogniska martwicy krwotocznej w tkance okołotrzustkowej. Barwienie H + E, pow. 200 ×

zmiany bardziej nasilone w porównaniu z poprzednimi grupami. Widoczne były nacieki komórek zapalnych w śródmiaższu trzustki, złożone z granulocytów obojętnochłonnych, limfocytów i makrofagów (ryc. 4), a w tkance śródmiaższowej trzustki oraz w tkance tłuszczowej okołotrzustkowej zauważono ogniska

martwicy krwotocznej (ryc. 5, ryc. 6). Suma punktów wg skali Spormanna wynosiła od 12 do 20 dla pojedynczego szkiełka (tab. 3).

W tab. 4, 5 i 6 przedstawiono charakterystykę porównawczą wskaźników biochemicznych pomiędzy grupami kontrolnymi (K) po podaniu 0,9% NaCl oraz

Tab. 4. Charakterystyka porównawcza wskaźników biochemicznych grupy kontrolnej po podaniu 0,9% NaCl i grupy eksperymentalnej po podaniu taurocholanu w 24. godzinie

Wskaźnik biochemiczny	24. godzina	Grupa kontrolna (K)	Grupa eksperymentalna (E)	Wartość p
Kreatynina	śr. ± od. stand.	0,62 ± 0,02*	0,91 ± 0,50*	Z = -2,76
	zakres	0,60-0,66	0,67-2,03	p = 0,0058
	mediana	0,62	0,71	
	95% CI	[0,60; 0,65]	[0,45; 1,37]	
Kwas moczowy	śr. ± od. stand.	0,93 ± 0,34	0,92 ± 0,19	Z = 0,16
	zakres	0,59-1,47	0,74-1,33	p = 0,8710
	mediana	0,93	0,88	
	95% CI	[0,51; 1,35]	[0,74; 1,09]	
Bilirubina całkowita	śr. ± od. stand.	0,12 ± 0,02*	0,33 ± 0,15*	t = -3,12
	zakres	0,10-0,15	0,16-0,63	p = 0,0109
	mediana	0,13	0,33	
	95% CI	[0,10; 0,15]	[0,20; 0,47]	
AST	śr. ± od. stand.	311,40 ± 172,63	449,71 ± 94,78	Z = -1,62
	zakres	204,00-618,00	290,00-602,00	p = 0,1044
	mediana	248,00	434,00	
	95% CI	[97,06; 525,74]	[362,06; 537,37]	
ALT	śr. ± od. stand.	115,20 ± 33,74*	250,00 ± 125,10*	Z = -2,27
	zakres	86,00-173,00	155,00-513,00	p = 0,0230
	mediana	109,00	251,00	
	95% CI	[73,30; 157,10]	[134,30; 365,70]	
Lipaza	śr. ± od. stand.	46,80 ± 8,58*	173,71 ± 164,20*	Z = -2,76
	zakres	37,00-60,00	67,00-534,00	p = 0,0058
	mediana	47,00	105,00	
	95% CI	[36,14; 57,46]	[21,86; 325,57]	
Amylaza	śr. ± od. stand.	1079,80 ± 85,64*	3523,71 ± 3734,64*	Z = -2,60
	zakres	1000,00-1221,00	1210,00-11723,00	p = 0,0094
	mediana	1075,00	1943,00	
	95% CI	[973,47; 1186,13]	[69,75; 6977,68]	
Glukoza	śr. ± od. stand.	132,40 ± 23,88	109,86 ± 11,77	t = 2,18
	zakres	106,00-158,00	88,00-120,00	p = 0,0540
	mediana	131,00	117,00	
	95% CI	[102,75; 162,05]	[98,97; 120,74]	
Żelazo	śr. ± od. stand.	105,80 ± 36,25*	51,14 ± 23,26*	t = 3,20
	zakres	74,00-168,00	29,00-97,00	p = 0,0095
	mediana	98,00	42,00	
	95% CI	[60,79; 150,81]	[29,64; 72,65]	
Magnez	śr. ± od. stand.	1,38 ± 0,04*	1,56 ± 0,06*	t = -6,20
	zakres	1,32-1,43	1,49-1,65	p = 0,0001
	mediana	1,38	1,55	
	95% CI	[1,33; 1,43]	[1,51; 1,61]	

Objaśnienia: p – poziom istotności; * – różnica istotna

grupami eksperymentalnymi (E) po podaniu taurocholanu w 24. i 48. godzinie.

W grupie eksperymentalnej po 24 godzinach od podania taurocholanu poziomy kreatyniny, bilirubiny całkowitej i magnezu oraz aktywność ALT, lipazy

i amylazy były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. Odwrotną zależność odnotowano w przypadku zawartości żelaza (tab. 4).

W 48. godzinie od podania taurocholanu u zwierząt z grupy eksperymentalnej zanotowano istotnie niższą

Tab. 5. Charakterystyka porównawcza wskaźników biochemicznych grupy kontrolnej po podaniu NaCl i grupy eksperymentalnej po podaniu taurocholalanu w 48. godzinie

Wskaźnik biochemiczny	48. godzina	Grupa kontrolna (K)	Grupa eksperymentalna (E)	Wartość p
Kreatynina	śr. $\pm$ od. stand.	0,55 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,05	t = -1,27
	zakres	0,50-0,60	0,49-0,64	p = 0,2327
	mediana	0,54	0,61	
	95% CI	[0,50; 0,60]	[0,53; 0,63]	
Kwas moczowy	śr. $\pm$ od. stand.	0,56 $\pm$ 0,15	0,40 $\pm$ 0,29	Z = -1,62
	zakres	0,42-0,76	0,25-1,05	p = 0,0513
	mediana	0,51	0,28	
	95% CI	[0,37; 0,75]	[0,13; 0,66]	
Bilirubina całkowita	śr. $\pm$ od. stand.	0,15 $\pm$ 0,03*	0,12 $\pm$ 0,02*	t = -3,12
	zakres	0,11-0,20	0,08-0,14	p = 0,0109
	mediana	0,14	0,13	
	95% CI	[0,11; 0,19]	[0,10; 0,14]	
AST	śr. $\pm$ od. stand.	186,60 $\pm$ 35,64	329,00 $\pm$ 57,15	t = -1,80
	zakres	156,00-239,00	225,00-415,00	p = 0,1028
	mediana	167,00	327,00	
	95% CI	[142,35; 230,85]	[276,15; 381,85]	
ALT	śr. $\pm$ od. stand.	105,80 $\pm$ 35,20*	139,00 $\pm$ 45,08*	t = -2,32
	zakres	73,00-160,00	54,00-205,00	p = 0,0428
	mediana	107,00	146,00	
	95% CI	[62,10; 149,50]	[97,31; 180,69]	
Lipaza	śr. $\pm$ od. stand.	327,00 $\pm$ 586,64	286,71 $\pm$ 323,18	Z = -1,62
	zakres	37,00-1376,00	91,00-878,00	p = 0,1044
	mediana	74,00	110,00	
	95% CI	[0,00; 1055,41]	[0,00; 585,60]	
Amylaza	śr. $\pm$ od. stand.	2207,40 $\pm$ 3070,65	1457,00 $\pm$ 1323,95	Z = -0,32
	zakres	752,00-7698,00	664,00-4404,00	p = 0,7453
	mediana	862,00	922,00	
	95% CI	[0,00; 6020,12]	[232,55; 2681,45]	
Glukoza	śr. $\pm$ od. stand.	108,40 $\pm$ 19,93	114,14 $\pm$ 14,39	t = 2,18
	zakres	89,00-140,00	92,00-137,00	p = 0,0540
	mediana	103,00	113,00	
	95% CI	[83,65; 133,15]	[100,83; 127,45]	
Żelazo	śr. $\pm$ od. stand.	127,40 $\pm$ 40,64	138,14 $\pm$ 36,36	Z = -0,81
	zakres	56,00-150,00	85,00-189,00	p = 0,4168
	mediana	149,00	154,00	
	95% CI	[76,94; 177,86]	[104,52; 171,77]	
Magnez	śr. $\pm$ od. stand.	1,42 $\pm$ 0,07	1,30 $\pm$ 0,50	Z = -0,65
	zakres	1,32-1,48	0,19-1,59	p = 0,5160
	mediana	1,44	1,51	
	95% CI	[1,33; 1,50]	[0,84; 1,76]	

Objaśnienia: tak jak w tab. 4

zawartość bilirubiny całkowitej a wyższą aktywność ALT (tab. 5).

Korelacje oceny histologicznej według Spormanna dla sumy wszystkich zmian histologicznych, jako nasilenie zapalenia trzustki i poszczególnych wskaźników bioche-

micznych w 24. i 48. godzinie od podania taurocholalanu zaprezentowano w tab. 6.

W grupie eksperymentalnej w 24. i 48. godzinie stwierdzono istotną statystycznie korelację stopnia nasilenia zapalenia trzustki z aktywnością ALT. W grupie

Tab. 6. Korelacje oceny histologicznej wg Spormanna i wskaźników biochemicznych w 24. i 48. godzinie

Wskaźnik biochemiczny	24. godzina				48. godzina			
	Grupa kontrolna (K)		Grupa eksperymentalna (E)		Grupa kontrolna (K)		Grupa eksperymentalna (E)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Kreatynina	-0,36	0,5528	0,01	0,9846	-0,37	0,5418	-0,16	0,7384
Kwas moczowy	-0,21	0,7406	-0,09	0,8463	-0,05	0,9347	0,01	0,9844
Bilirubina całkowita	0,08	0,8996	0,45	0,3055	0,50	0,3910	-0,38	0,4039
AST	-0,67	0,2189	-0,63	0,1289	0,46	0,4338	-0,35	0,4478
ALT	0,10	0,8696	0,77*	0,0408	-0,67	0,2189	-0,80*	0,0307
Lipaza	0,46	0,4338	-0,20	0,6701	0,21	0,7406	0,16	0,7384
Amylaza	0,82	0,0886	-0,05	0,9084	-0,10	0,8696	-0,58	0,1705
Glukoza	0,67	0,2189	-0,24	0,6099	0,87	0,0539	0,22	0,6383
Żelazo	0,67	0,2189	-0,31	0,5040	0,39	0,5108	0,30	0,5092
Magnez	-0,67	0,2189	0,19	0,6818	0,36	0,5528	-0,40	0,3738

Objaśnienia: r – współczynnik korelacji; p – poziom istotności; * – korelacja istotna

Tab. 7. Korelacje oceny histologicznej wg Spormanna i wskaźników biochemicznych dla zmian: martwica tłuszczowa, obrzęk, martwica gruczołowa i wylewy krwawe w grupie kontrolnej po podaniu NaCl i eksperymentalnej po podaniu taurocholalanu

Wskaźnik biochemiczny	Grupa kontrolna (K)		Grupa eksperymentalna (E)					
	Martwica tłuszczowa		Obrzęk		Martwica gruczołowa		Wylewy krwawe	
	48. godzina		24. godzina		48. godzina		48. godzina	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Kreatynina	-0,34	0,5707	-0,08	0,8650	0,18	0,6979	-0,63	0,1324
Kwas moczowy	-0,22	0,7177	0,08	0,8650	0,48	0,2729	-0,51	0,2455
Bilirubina całkowita	0,34	0,5707	0,48	0,2772	-0,81*	0,0285	0,43	0,3364
AST	0,45	0,4502	-0,47	0,2822	-0,78*	0,0399	0,39	0,3817
ALT	-0,89*	0,0405	0,32	0,4896	0,12	0,7985	-0,67	0,0997
Lipaza	0,22	0,7177	-0,16	0,7349	0,18	0,6979	0,21	0,6533
Amylaza	-0,22	0,7177	0,47	0,2822	0,42	0,3503	-0,73	0,0631
Glukoza	0,67	0,2152	0,48	0,2772	-0,72	0,0697	0,87*	0,0115
Żelazo	0,23	0,7105	-0,32	0,4896	-0,60	0,1518	0,65	0,1169
Magnez	0,22	0,7177	0,80*	0,0316	0,60	0,1565	-0,71	0,0743

Objaśnienia: jak w tab. 6

eksperymentalnej w 24. godzinie wraz ze wzrostem aktywności ALT rosło nasilenie zapalenia trzustki, a w 48. godzinie wraz ze spadkiem aktywności ALT rosło nasilenie zapalenia trzustki (tab. 6).

Zbadano korelacje oceny histologicznej według Spormanna dla poszczególnych zmian histologicznych i wskaźników biochemicznych, przedstawiając wyniki w tab. 7.

W grupie kontrolnej w 48. godzinie wraz ze spadkiem ALT rosło nasilenie martwicy tłuszczowej. W grupie eksperymentalnej, w 24. godzinie wraz ze wzrostem poziomu magnezu rosło nasilenie zmiany pod postacią obrzęku. W 48. godzinie, w grupie eksperymentalnej, wraz ze spadkiem zawartości bilirubiny całkowitej i aktywności AST rosło nasilenie zmian pod postacią martwicy gruczołowej. W 48. godzinie wraz ze wzrostem poziomu glukozy rosło nasilenie zmiany wylewy krwawe. Nie zauważono istotnych statystycznie korelacji nasilenia pozostałych zmian (tab. 7).

Wyniki analizy regresji metodą wszystkie efekty przedstawiono w tab. 8. Tylko w 24. godzinie otrzymano istotne statystycznie wyniki regresji.

Znajomość metod wczesnego prognozowania ostrego zapalenia trzustki ma ogromnie znaczenie szczególnie w przypadku wyboru właściwego postępowania terapeutycznego, co może zapobiec ogólnoustrojowym powikłaniom obciążonym wysokim ryzykiem zgonu. W dalszym ciągu poszukuje się zestawu parametrów biochemicznych ułatwiających szybkie rozpoznanie ostrego zapalenia trzustki.

Podwyższony poziom kreatyniny i wzrost poziomu glukozy we krwi znacząco korelują ze śmiertelnością (5). Wzrost poziomu kreatyniny w pierwszych 48 godzinach od przyjęcia ma dodatnią wartość predykcyjną (93%) wystąpienia martwicy trzustki u pacjentów z OZT (12). W doświadczeniu własnym po podaniu taurocholalanu stężenie kreatyniny wzrosło w 24. godzinie doświadczenia.

Tab. 8. Wyniki analizy regresji – metoda wszystkie efekty

Wskaźnik biochemiczny	Analiza regresji Metoda wszystkie efekty			
	24. godzina		48. godzina	
	b	p	b	p
Wyraz wolny	-35,68*	0,0363	48,95	0,4868
Kreatynina	-2,56	0,0960	-21,22	0,7910
Kwas moczowy	7,86*	0,0151	-9,94	0,6830
Bilirubina całkowita	-23,31*	0,0401	-240,12	0,4279
AST	-0,03*	0,0135	0,02	0,6488
ALT	0,05*	0,0120	-0,04	0,7902
Lipaza	0,13*	0,0160	-0,03	0,7923
Amylaza	-0,01*	0,0162	0,00	0,8220
Glukoza	-0,05*	0,0330	0,40	0,4943
Żelazo	0,01	0,1217	-0,15	0,5208
Magnez	36,43*	0,0262	-8,80	0,8474

Objaśnienia: b – współczynnik regresji; p – poziom istotności; * regresja istotna

W OZT o etiologii alkoholowej martwica występuje częściej, niż w pozostałych etiologiach (10). ALT jest jednym z czynników predykcyjnych – wyższe wartości są prognostyczne dla łagodnych postaci OZT. Wyższe wartości ALT są widoczne w OZT o etiologii żółciowej niż o etiologii alkoholowej (17).

W doświadczeniu suma punktów w skali Spormanna w podgrupach eksperymentalnych (E) była wyższa niż w grupach kontrolnych (K), co świadczy o nasilonych zmianach histologicznych u osobników otrzymujących taurocholan sodu. Przyjęty model eksperymentalny Aho i Heinkela zakłada odzwierciedlenie zmian laboratoryjnych i histologicznych w 24. godzinie doświadczenia podania taurocholenu, co odpowiada zmianom u człowieka w siódmej dobie OZT.

Obrzęk nasilał się wraz ze wzrostem poziomu magnezu w 24. godzinie. Natomiast nie stwierdzono zależności pomiędzy martwicą tłuszczową a zmianami poziomów badanych wskaźników biochemicznych. Nasilenie martwicy gruczołowej obserwowano w 48. godzinie doświadczenia wraz ze spadkiem zawartości bilirubiny całkowitej lub obniżeniem poziomu AST. Wylewy krwawe zwiększały się w 48. godzinie, gdy podwyższył się poziom glukozy.

Dokonując charakterystyki porównawczej wskaźników biochemicznych pomiędzy grupami kontrolnymi (K) po podaniu NaCl oraz grupami eksperymentalnymi (E) po podaniu taurocholenu istotne statystycznie różnice spośród 10 badanych wskaźników stwierdzono w 24. godzinie dla kreatyniny, bilirubiny całkowitej, ALT, lipazy, amylazy, żelaza i magnezu, a w 48. godzinie dla bilirubiny całkowitej i ALT.

Zmiany histopatologiczne pojawiały się wcześniej niż zmiany wyników badań laboratoryjnych, przy czym istotne korelacje ze skalą Spormanna dotyczyły zmian poziomów bilirubiny całkowitej, AST, ALT, glukozy i magnezu.

Istotnie statystycznie wyniki regresji z punktacją według Spormanna otrzymano dla prawie wszystkich wskaźników laboratoryjnych w 24. godzinie pobrania, co u człowieka odpowiada 7. dobie OZT.

W dalszym ciągu poszukiwany jest idealny marker OZT, który zapewni odpowiednio wczesne przewidywanie przebiegu choroby i potwierdzenie etiologii. Odkrycie prostego i taniego w użyciu markera może okazać się przydatne, jeśli zostanie potwierdzone w dużych badaniach prospektywnych. Aktualny stan wiedzy, bazujący na doniesieniach naukowych i klinicznych, pozwala na zastosowanie interdyscyplinarnego postępowania klinicznego, opartego na dobraniu odpowiednich badań laboratoryjnych, radiologicznych i wdrożeniu procedur terapeutycznych.

Piśmiennictwo

1. Aho H. J., Konkensalo M. L., Nevalainen T. L.: Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 1980, 15, 411-416.
2. Aho H. J., Nevalainen T. J.: Experimental pancreatitis in the rat. Ultrastructure of Sodium Taurocholate-induced pancreatic lesions. *Scand. J. Gastroenterol.* 1980, 15, 417-424.
3. Banks P. A., Freeman M. L.: Practice Guidelines in Acute Pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2006, 101, 2379-2400.
4. Beaux A. C. de, Palmer K. R., Carter D. C.: Factors influencing morbidity and mortality in acute pancreatitis: an analysis of 279 cases. *Gut* 1995, 37, 121-126.
5. Blum T., Maisonneuve P., Lowenfels A. B., Lankisch P. G.: Fatal outcome in acute pancreatitis: its occurrence and early prediction. *Pancreatology* 2001, 1, 237-241.
6. Davidson B. R., Neoptolemos J. P., Leese T., Carr-Locke D. L.: Biochemical prediction of gallstones in acute pancreatitis: a prospective study of three systems. *Br. J. Surg.* 1988, 75, 213-215.
7. Dholakia K., Pitchumoni C. S., Agarwal N.: How often are liver function tests normal in acute biliary pancreatitis? *J. Clin. Gastroenterol.* 2004, 38, 81-83.
8. Isenman R., Rau B., Beger H. G.: Bacterial infection and extent of necrosis are determinants of organ failure in patients with acute necrotizing pancreatitis. *Brit. J. Surg.* 1999, 86, 1020-1024.
9. Lankisch P. G., Burchard Reckert S., Lehnick D.: Underestimation of acute pancreatitis: patients with only a small increase in amylase/lipase levels can also have or develop severe acute pancreatitis. *Gut* 1999, 44, 542-544.
10. Lankisch P. G., Pflichthofer D., Lehnick D.: No strict correlation between necrosis and organ failure in acute pancreatitis. *Pancreas* 2000, 20, 319-322.
11. McKay C. J., Imrie C. W.: The continuing challenge of early mortality in acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 2004, 91, 1243-1244.
12. Muddana V., Whitcomb D. C., Khalid A., Slivka A., Papachristou G. I.: Elevated serum creatinine as a marker of pancreatic necrosis in acute pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2009, 104, 164-170.
13. Munoz A., Katerndahl D. A.: Diagnosis and management of acute pancreatitis. *Am. Fam. Physician.* 2000, 62, 164-174.
14. Spormann H., Sokolowski A., Letko G.: Effect of temporary ischemia upon development and histological patterns of acute pancreatitis in the rat. *Path. Res. Pract.* 1989, 184, 507-513.
15. Spormann H., Sokolowski A., Letko G.: Experimental acute pancreatitis – a quantification of dynamics at enzymic and histomorphologic levels. *Pathol. Res. Pract.* 1989, 185, 358-362.
16. Steer M. L.: Workshop on experimental pancreatitis – report of workshop. *Dig. Dis. Sci.* 1985, 30, 575-581.
17. Stimac D., Miletic D., Radic M., Krznaric I., Mazur-Grbac M., Perkovic D., Milic S., Golubovic V.: The role of nonenhanced magnetic resonance imaging in the early assessment of acute pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2007, 102, 997-1004.
18. Tenner S., Dubner H., Steinberg W.: Predicting gallstone pancreatitis with laboratory parameters: a meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 1994, 89, 1863-1866.
19. Vissers R. J., Abu-Laban R. B., McHugh D. F.: Amylase and lipase in the emergency department evaluation of acute pancreatitis. *J. Emerg. Med.* 1999, 17, 1027-1037.
20. Yadav D., Agarwal N., Pitchumoni C. S.: A critical evaluation of laboratory tests in acute pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2002, 97, 1309-1318.

Adres autora: dr n. med. Jacek Baj, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin; e-mail: jacek.baj@umlub.pl