

Peroksydacja lipidów w narządach szczurów przy ostrym zapaleniu trzustki

STANISŁAWA BARHAM, JERZY TRUCHLIŃSKI*, KATARZYNA OGNIK*

Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii Samodzielnego Publicznego Szpitala Wojewódzkiego im. Jana Bożego, ul. Biernackiego 9, 20-089 Lublin

*Katedra Biochemii i Toksykologii Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin

Barham S., Truchliński J., Ognik K.

Peroxidation of lipids in rats' organs during acute pancreatitis

Summary

The experiment was carried out using 32 Wistar strain male rats of 280-320 g body weight. The animals were randomly divided into 2 groups. Control group I were healthy animals (8 rats). In group II, acute pancreatitis was induced by injecting 5% sodium taurocholate solution into the common bile-pancreas duct. Twenty-four hours before the operation, animals were food deprived and were given Dormicum (from a vial) in ad libitum drinking water. After acute pancreatitis induction, the animals of group II were additionally divided into 3 sub-groups: A, B, and C according to the time the disease had developed. Blood and internal organs from sub-group A were sampled after 3 hours, from group B – after 24 hours, and from group C – after 48 hours. Organs were homogenized in 20 mM Tris buffer at pH 7.4. Products of lipid peroxidation were determined in supernatant: conjugated dienes, hydroperoxilipid dienes and malonic aldehyde. Total anti-oxidation potential was determined in blood serum along with its components: uric acid, urea and bilirubin. α -amylase in serum activity was also recorded to confirm the development of acute pancreatitis.

The results of the study revealed very variable dynamics of lipid peroxidation in organs essential for survival during acute pancreatitis. This suggests that the mechanisms of anti-oxidation defense are not able to successfully protect the organism against oxidation stress during acute pancreatitis, which consequently enhances the risk of multi-organ failure syndrome. A detailed explanation of the oxidation stress role in the course of acute pancreatitis and its complications requires further integrated studies at the molecular level, cellular culturing and on animal models.

Keywords: acute pancreatitis, lipid peroxidation, antioxidants

Ostre zapalenie trzustki (OZT) jest procesem chorobowym samego gruczołu z zajęciem w większym lub mniejszym stopniu sąsiadujących tkanek i narządów. Jest to choroba ogólnoustrojowa, wywołana procesem autodestrukcyjnym gruczołu, prowadząca do ciężkich powikłań wielonarządowych. W przebiegu choroby, w dużej liczbie przypadków dochodzi do rozwoju encefalopatii trzustkowej, zespołu uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS), uszkodzeń narządów mięsnych i serca (MOF), a w końcowym etapie choroby występuje niewydolność wielonarządową (MODS), często doprowadzająca do zgonu. Patogeneza OZT pozostaje nadal bardzo niejasna. Dotychczas zidentyfikowano 68 czynników etiologicznych mogących wywołać OZT, jednak nie ustalono mechanizmu spustowego, który inicjowałaby w trzustce miejscową, jałową reakcję zapalną. W zależności od działania czynników etiologicznych wyróżnia się dwie postaci makroskopowe OZT, obrzękową i martwiczo-krwotoczną. Pierwszą postać charakteryzuje obrzęk trzustki i otaczających tkanek, które mają wygląd żółto-zielony, a w jamie otrzewnej gromadzi się duża ilość

płynu surowiczego. W drugiej postaci trzustka jest powiększona, ma zabarwienie ciemnoczerwone nawet do czarnego, w jamie otrzewnej znajduje się wysięk o barwie tzw. „popłuczyn mięsnych”. W postaci martwiczo-krwotocznej OZT proces chorobowy obejmuje okoliczne narządy: żołądek, dwunastnicę, okrężnicę poprzeczną i przestrzeń zaotrzewnową. Mogą one tworzyć wraz z trzustką trudny do rozdzielenia guz zapalny (2).

Na rolę reaktywnych form tlenu w patogenezie OZT po raz pierwszy zwrócił uwagę Sanfey i wsp. w 1984 r. (16). Stwierdzono również, że istnieje możliwość zapobiegania tego typu procesom zapalnym dzięki zmiataczom reaktywnych form tlenu (dysmutaza nadadtlenkowa, katalaza, glutation, kwas askorbinowy, metionina, cysteina) (16). Z uwagi na to, że z ostrym zapaleniem trzustki ściśle wiąże się niewydolność innych odległych narządów, a dotyczy to głównie płuc, nerek, CUN i wątroby, poznanie i określenie właściwej roli reakcji wolnorodnikowych w patogenezie tej choroby może mieć istotne znaczenie dla leczenia przyczynowego bądź profilaktyki tych groźnych powikłań.

W związku z powyższym, celem niniejszych badań była ocena wpływu ostrego zapalenia trzustki na dynamikę peroksydacji lipidów w ważnych dla życia narządach, a także na wydolność antyoksydacyjną ustroju.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 32 szczurach szczepu Wistar, samcach o masie ciała od 280 do 320 gramów. Zwierzęta podzielono losowo na dwie grupy. Grupę I (8 szczurów), potraktowano jako kontrolną, którą stanowiły zwierzęta zdrowe. W II grupie zwierząt (24 szczury), indukowano ostre zapalenie trzustki, tj. na 24 godziny przed doświadczeniem zwierzęta pozbawiono pożywienia, lecz miały wolny dostęp do wody pitnej, do której przed zabiegiem dodawano Dormicum (roztwór z ampułki) w celu wywołania sedacji. Zapalenie trzustki wywoływano, wstrzykując do przewodu żółciowo-trzustkowego wspólnego 5% roztwór taurocholalanu sodu wg metody Heinkela i Aho (1). Dodatkowo grupę II podzielono na 3 podgrupy A, B, C wg kryterium czasu rozwoju OZT. Krew i narządy (trzustka, mózg, płuca, nerka, wątroba) w podgrupie II A pobrano po 3 godzinach od indukcji zapalenia, natomiast w podgrupie II B po 24, a w II C po 48 godzinach. Pobrane narządy przepłukiwano roztworem soli fizjologicznej, a następnie homogenizowano w 4 objętościach 20 mM buforu Tris o pH 7,4 w homogenizatorze szklanym. Homogenaty wirowano przez 15 minut ($3000 \times g$ w temp. $4^{\circ}C$). W płynie znad osadu oznaczono produkty peroksydacji lipidów: sprzężone dieny (CD), hydronadtlenki lipidowe (HP) i aldehyd malonowy (MDA). Sprzężone dieny i hydronadtlenki lipidowe w homogenatach oznaczono metodą Buegue i Augusta w modyfikacji Warda (3). Zawartość dialdehydu malonowego w homogenatach tkankowych oznaczono metodą Ledwożywa i wsp. (15). W osoczu krwi kolorymetrycznie oznaczono całkowity potencjał osocza (FRAP) wg Benzie i wsp. (13) oraz jego składowe: kwas moczowy, mocznik i bilirubinę, wykorzystując gotowe monotesty firmy Cormey. Ponadto w celu potwierdzenia rozwoju ostrego zapalenia trzustki, korzystając również z monotestu firmy Cormey, spektrofotometrycznie dokonano oceny aktywności α -amylazy.

Uzyskane dane liczbowe poddano analizie wariancji w klasyfikacji pojedynczej ANOVA i otrzymano wartości średnie dla grup oraz odchylenia standardowe dla średnich. Porównania średnich w poszczególnych grupach dokonano za pomocą testu wielokrotnego rozstępu D Duncana. Zastosowano również test t-Studenta dla danych niezależnych.

Wyniki i omówienie

Indukowane zapalenie trzustki u szczurów spowodowało wzrost aktywności α -amylazy już po 3 godzinach obserwacji. Istotnie wyższą niż w grupie kontrolnej aktywność tego enzymu odnotowano również po 24 i 48 godzinach eksperymentu (tab. 1).

Zawartość sprzężonych dienów (CD) w wybranych narządach szczurów zestawiono w tab. 2. Jak wynika z zamieszczonych w niej danych, najwyższą ich zawartość w trzustce stwierdzono w 3. i w 24. godzinie po indukcji OZT. Natomiast po 48 godzinach obserwacji

Tab. 1. Aktywność α -amylazy (U/l) w osoczu krwi szczurów w 3., 24. i 48. godzinie od indukcji zapalenia trzustki (\bar{x} , $\pm s$)

| Kontrola I | Grupy doświadczalne II | | |
|---------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|
| | Czas trwania doświadczenia (h) | | |
| | 3 | 24 | 48 |
| 988 \pm 220 | 2811** \pm 198 | 1140* \pm 387 | 2178* \pm 369 |

Objaśnienia: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$ – względem grupy kontrolnej (test t-Studenta)

poziom CD w trzustce okazał się znacznie niższy i bardzo zbliżony do wartości uzyskanej dla grupy kontrolnej. Utrzymujący się wzrost zawartości CD zarówno w 3., 24. jak i w 48. godzinie eksperymentu odnotowano w mózgu zwierząt doświadczalnych. Uzyskane wartości okazały się istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Najwyższe stężenie CD w płucach chorych zwierząt stwierdzono w 3. godzinie trwania eksperymentu. W 24. i 48. godzinie zawartość sprzężonych dienów w płucach zwierząt doświadczalnych nie różniła się istotnie od grupy kontrolnej. W ciągu pierwszej doby (tj. w 3. i 24. godzinie eksperymentu) w wątrobie zwierząt chorych nie stwierdzono istotnych różnic w stosunku do zwierząt zdrowych. Wzrost poziomu CD w wątrobie, zaobserwowano dopiero w 48. godzinie po podaniu taurocholalanu sodu. Natomiast w nerkach zawartość CD była istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej jedynie w 3. godzinie doświadczenia, po czym w 24. i 48. godzinie stopniowo ulegała obniżeniu.

Tab. 2. Poziom sprzężonych dienów (OD/g tkanki) w narządach szczurów w 3., 24. i 48. godzinie od indukcji zapalenia trzustki (\bar{x} , $\pm s$)

| Narząd | Kontrola I | Grupy doświadczalne II (A, B, C) | | |
|----------|-------------------|----------------------------------|--------------------|---------------------|
| | | Czas trwania doświadczenia (h) | | |
| | | 3 | 24 | 48 |
| Trzustka | 0,573 \pm 0,044 | 1,954** \pm 0,371 | 1,182* \pm 0,293 | 0,588 \pm 0,082 |
| Mózg | 0,612 \pm 0,076 | 1,728** \pm 0,161 | 0,979* \pm 0,061 | 1,115** \pm 0,063 |
| Płuca | 0,803 \pm 0,098 | 1,318** \pm 0,08 | 0,968 \pm 0,098 | 0,799 \pm 0,048 |
| Wątroba | 0,639 \pm 0,023 | 0,636 \pm 0,056 | 0,608 \pm 0,053 | 0,911* \pm 0,059 |
| Nerka | 0,577 \pm 0,045 | 0,773* \pm 0,019 | 0,606 \pm 0,043 | 0,405 \pm 0,024 |

Objaśnienia: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ – względem grupy kontrolnej (test Duncana)

Tab. 3. Poziom hydronadtlenków lipidowych (OD/g tkanki) w narządach szczurów w 3., 24. i 48. godzinie od indukcji zapalenia trzustki (\bar{x} , $\pm s$)

| Narząd | Kontrola I | Grupy doświadczalne II (A, B, C) | | |
|----------|-------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|
| | | Czas trwania doświadczenia (h) | | |
| | | 3 | 24 | 48 |
| Trzustka | 0,014 \pm 0,002 | 0,033* \pm 0,004 | 0,030* \pm 0,002 | 0,043** \pm 0,005 |
| Mózg | 0,004 \pm 0,001 | 0,010* \pm 0,0002 | 0,016** \pm 0,001 | 0,021** \pm 0,001 |
| Płuca | 0,015 \pm 0,001 | 0,020 \pm 0,001 | 0,077** \pm 0,006 | 0,043* \pm 0,006 |
| Wątroba | 0,018 \pm 0,003 | 0,014 \pm 0,001 | 0,023 \pm 0,003 | 0,039** \pm 0,001 |
| Nerka | 0,035 \pm 0,004 | 0,071** \pm 0,010 | 0,052 \pm 0,009 | 0,031 \pm 0,003 |

Objaśnienia: jak w tab. 2.

Tab. 4. Poziom aldehydu malonowego (nM/g tkanki) w narządach szczurów w 3., 24. i 48. godzinie od indukcji zapalenia trzustki (\bar{x} , \pm s)

| Narząd | Kontrola I | Grupy doświadczalne II (A, B, C) | | |
|----------|-----------------|----------------------------------|--------------------|-------------------|
| | | Czas trwania doświadczenia (h) | | |
| | | 3 | 24 | 48 |
| Trzustka | 2,79 \pm 0,16 | 5,76* \pm 0,67 | 11,10** \pm 0,26 | 9,30** \pm 1,04 |
| Mózg | 4,04 \pm 0,20 | 4,66 \pm 0,18 | 6,11* \pm 0,36 | 8,59** \pm 0,19 |
| Płuca | 2,06 \pm 0,12 | 9,99** \pm 0,37 | 10,42** \pm 0,69 | 9,44** \pm 0,34 |
| Wątroba | 4,77 \pm 0,04 | 5,34* \pm 0,19 | 5,82* \pm 0,20 | 5,20 \pm 0,21 |
| Nerka | 4,59 \pm 0,09 | 4,65 \pm 0,46 | 5,24* \pm 0,28 | 3,46 \pm 0,05 |

Objaśnienia: jak w tab. 2.

Zawartość hydronadtlenków lipidowych (HP) w wybranych narządach szczurów przedstawiono w tab. 3. W 3. i 24. godzinie po indukcji zapalenia trzustki stężenie HP w tym narządzie wzrosło ponad dwukrotnie w stosunku do wartości uzyskanej dla grupy kontrolnej. W 48. godzinie zawartość hydronadtlenków lipidowych w trzustce wzrosła, osiągając wartość trzykrotnie wyższą niż w grupie kontrolnej. Znacznie wyższą niż w grupie kontrolnej zawartość HP stwierdzono w mózgu zwierząt eksperymentalnych zarówno w 3., 24., jak i 48. godzinie po indukcji OZT. Podwyższoną zawartość hydronadtlenków lipidowych zaobserwowano również w płucach II grupy zwierząt, jednak dopiero w 24. godzinie eksperymentu. W 48. godzinie nastąpiło obniżenie ich zawartości o 44%, co w odniesieniu do wartości uzyskanej dla grupy kontrolnej nadal stanowiło różnicę istotnie wyższą. Podczas trwania pierwszej doby doświadczenia nie zaobserwowano znacznych zmian w zawartości hydronadtlenków lipidowych w wątrobie zwierząt poddanych eksperymentowi (grupa II). Znaczny ich wzrost w stosunku do kontroli nastąpił dopiero w 48. godzinie od indukcji zapalenia. Istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej poziom hydronadtlenków lipidowych w nerkach zwierząt grupy II odnotowano jedynie w 3. godzinie trwania zapalenia trzustki.

Zawartość aldehydu malonowego (MDA) w wybranych narządach szczurów przedstawiono w tab. 4. Zaobserwowano, iż indukowane zapalenie trzustki (grupa II) w istotny sposób wpłynęło na wzrost zawartości MDA w tym narządzie zarówno w 3., 24., jak również w 48. godzinie eksperymentu. Stwierdzone wartości były

Tab. 5. Potencjał oksydoredukcyjny osocza (FRAP) oraz jego składowe we krwi szczurów w 3., 24. i 48. godzinie od indukcji zapalenia trzustki (\bar{x} , \pm s)

| Narząd | Kontrola I | Grupy doświadczalne II (A, B, C) | | |
|----------------------|------------------|----------------------------------|--------------------|-------------------|
| | | Czas trwania doświadczenia (h) | | |
| | | 3 | 24 | 48 |
| FRAP (μ mol/l) | 489,1 \pm 32,1 | 746,7** \pm 41,6 | 709,2** \pm 54,8 | 321,2 \pm 10,4 |
| Kwas moczowy (mg/dl) | 2,10 \pm 0,22 | 3,70* \pm 0,19 | 6,98** \pm 1,06 | 1,21 \pm 0,24 |
| Mocznik (mg/dl) | 25,33 \pm 3,35 | 33,21 \pm 2,07 | 41,75** \pm 4,39 | 37,05* \pm 4,02 |
| Bilirubina (mg/dl) | 0,26 \pm 0,03 | 0,57 \pm 0,09 | 1,14** \pm 0,34 | 0,41 \pm 0,21 |

Objaśnienia: jak w tab. 2.

istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Poziom MDA w mózgu zwierząt doświadczalnych okazał się istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej w 24. i 48. godzinie po indukowanym zapaleniu trzustki. Natomiast w płucach zwierząt grupy II poziom MDA był wyższy niż w grupie kontrolnej przez cały okres obserwacji. W wątrobie zwierząt chorych istotny wzrost MDA stwierdzono w 3. i 24. godzinie eksperymentu. Otrzymane wartości w odniesieniu do grupy kontrolnej okazały się istotnie wyższe. Podwyższony poziom MDA w nerkach zwierząt grupy II odnotowano dopiero w 24. godzinie po indukowanym zapaleniu trzustki; był on o 14% wyższy względem kontroli. Natomiast w 48. godzinie poziom MDA w nerkach uległ obniżeniu o 34%, co w stosunku do wartości otrzymanej dla grupy kontrolnej stanowiło różnicę istotnie niższą.

Otrzymane wartości całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (FRAP) oraz wybranych antyoksydantów osocza zestawiono w tab. 5. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że ostre zapalenie trzustki u zwierząt grupy II spowodowało istotny wzrost całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (FRAP), który szczególnie widoczny był w 3. i 24. godzinie obserwacji. Natomiast w 48. godzinie trwania choroby odnotowano znaczne obniżenie wartości całkowitego potencjału antyoksydacyjnego, co w porównaniu z grupą kontrolną stanowiło różnicę statystycznie istotną. W 3. i 24. godzinie od indukcji zapalenia trzustki w osoczu zwierząt grupy II stwierdzono istotny wzrost stężenia kwasu moczowego, po czym w 48. godzinie zanotowano jego spadek poniżej wartości kontrolnej. U zwierząt grupy II istotnie wyższą zawartość mocznika w odniesieniu do grupy kontrolnej stwierdzono w 24. i 48. godzinie trwania doświadczenia. Poziom bilirubiny w osoczu krwi zwierząt eksperymentalnych okazał się istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej jedynie w 24. godzinie eksperymentu.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, iż stężenie sprzężonych dienów i aldehydu malonowego w trzustce osiągały wartości maksymalne w pierwszej dobie doświadczenia, po czym w kolejnych godzinach eksperymentu obserwowano ich spadek. Natomiast poziom hydronadtlenków lipidowych utrzymywał się na podwyższonym poziomie przez cały okres trwania doświadczenia. Uzyskane wyniki świadczą niewątpliwie, co podkreśla także Dąbrowski (6, 8) i Śledziński (17), o bardzo ważnej roli reakcji wolnorodnikowych już w początkowym okresie OZT. Tym bardziej, podczas prowadzonych badań stwierdzono, że wzrostowi produktów peroksydacji towarzyszyła hiperamylazemia, wskazująca na rozwój ostrego zapalenia trzustki. Szczególnie intensywny proces peroksydacji lipidów występował w mózgu zwierząt z OZT, co wskazywać może na dużą intensywność zachodzących reakcji wolnorodnikowych w CUN. Według Farkasa i wsp. (9),

rozwijający się proces zapalny może powodować generację wolnych rodników tlenowych i inicjować peroksydację lipidów również w CUN, gdyż mediatory stanu zapalnego mogą docierać do ośrodkowego układu nerwowego drogą krwionośną, jak również mogą być wytwarzane w mózgu przez komórki śródbłonnków naczyń zawłośniczkowych mózgowia. Z uzyskanych danych wynika, że nasilenie peroksydacji lipidów w płucach wyrażające się wzrostem zawartości sprzężonych dienów i aldehydu malonowego następowało już w 3. godzinie od indukcji zapalenia trzustki, natomiast istotny wzrost stężenia hydronadtlenków lipidowych następował po 24 godzinach trwania OZT. Podobne rezultaty otrzymali również Gilgenast i wsp. (11), którzy wykazali wzrost zmodyfikowanych białek w płucach w wyniku działania 4-hydroksynonenalu. Wzmożone stężenie produktów peroksydacji lipidów w płucach może być następstwem kumulacji tam granulocytów obojętnochnonnych i makrofagów, na co zwracają uwagę inni autorzy (10, 12). Przejściowy wzrost ilości aldehydu malonowego w wątrobie zanotowano w pierwszej dobie trwania choroby, natomiast podwyższenie stężenia sprzężonych dienów i hydronadtlenków lipidowych nastąpiło dopiero po 48 godzinach. Podobne rezultaty otrzymali Dąbrowski i wsp. (7), którzy stwierdzili podwyższenie ilości MDA w homogenacie wątroby 12 godzin po wywołaniu ostrego zapalenia trzustki. Wątroba jest szczególnie narażona na uszkodzenia w przebiegu OZT ze względu na ścisłe powiązanie anatomiczne z trzustką. Taki układ połączenia umożliwia napływ produktów peroksydacji i innych mediatorów zapalenia do wątroby. Wykazany w badaniach późny wzrost CD i HP oraz wczesny spadek MDA mogą świadczyć o przejściowym charakterze zmian w wątrobie w przebiegu OZT i potwierdzają także ochronną rolę bariery wątrobowej. Podczas doświadczenia (w pierwszej dobie) istotny wzrost produktów peroksydacji lipidów stwierdzono w nerkach badanych zwierząt. Podobne obserwacje poczynili Czako i wsp. (5) oraz Gilgenast (11), którzy wykazali zależność pomiędzy stopniem zaawansowania OZT a poziomem produktów peroksydacji lipidów w nerkach. Udowodniono także udział fosfolipazy A₂ i nadtlenków lipidowych w uszkodzeniu cewek nerkowych w początkowej fazie zapalenia trzustki (14). Triebing i wsp. (18) również wykazali korelację pomiędzy nasileniem stanu zapalnego w trzustce a uszkodzeniem lizosomów komórek nerkowych. Wysoka wartość całkowitego potencjału antyoksydacyjnego w osoczu zwierząt z OZT w pierwszej dobie eksperymentu wynika niewątpliwie ze wzrostu stężenia nieenzymatycznych antyoksydantów, tj. kwasu moczowego, bilirubiny i mocznika. Odnotowany istotny spadek tego potencjału w drugiej dobie doświadczenia może być związany z nasiloną generacją wolnych rodników tlenowych i z jednoczesnym wyczerpaniem się zasobów nieenzymatycznych antyoksydantów. Podobne spostrzeżenia kliniczne u ludzi poczynili Curran i wsp. (4), którzy stwierdzili, że stężenie antyoksydantów w surowicy jest odwrotnie proporcjonalne do wzrostu poziomu CRP (białka ostrej fazy), gdzie u chorych z łagodną postacią choroby stężenie antyoksydantów było znacząco większe niż w ciężkim martwiczo-krwotocznym OZT.

Reasumując można stwierdzić, że wyniki przeprowadzonych analiz wskazują na bardzo zmienną dynamikę peroksydacji lipidów w ważnych dla życia narządach w przebiegu ostrego zapalenia trzustki. Świadczyć to może o tym, że systemy antyoksydacyjnej obrony nie są w stanie skutecznie zabezpieczyć organizmu przed stresem oksydacyjnym podczas OZT, co pociąga za sobą wzrost ryzyka wystąpienia zespołu niewydolności wielonarządowej. Dokładne wyjaśnienie roli stresu oksydacyjnego w przebiegu OZT i jej powikłaniach wymaga, zatem dalszych zintegrowanych badań na poziomie molekularnym, hodowlach komórkowych i modelach zwierzęcych. Wymaga także przeprowadzenia i oceny terapeutycznych prób zastosowania preparatów o właściwościach antyoksydacyjnych w leczeniu i profilaktyce powikłań narządowych u chorych z OZT.

Piśmiennictwo

1. Aho H. J., Koskensalo M. L., Nevalainen T. J.: Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand. J. Gastroent.* 1980, 15, 41-416.
2. Bardalin K. A.: Patomorfologia ostrego zapalenia trzustki. Ostre zapalenie trzustki – J. Jastrzębski (red.). L-medica press Bielsko-Biała. 1998.
3. Buegue J. A., August S. D.: Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 1978, 52, 302-310.
4. Curran F. J., Sattar N., Talwar D., Baxter J. N., Imrie C. W.: Relationship of carotenoid and vitamins A and E with the acute inflammatory response in acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 2000, 87, 301-305.
5. Czako L., Takacs T., Varga I. S., Tiszlavicz L., Hai D. Q., Markovics B., Lonovics J.: Oxidative stress in distant organs and the effect of allopurinol during experimental acute pancreatitis. *Int. J. Pancreatol.* 2000, 27, 209-216.
6. Dąbrowski A., Gabrylewicz A., Chwiecko M.: Products of lipid peroxidation and changes in sulfhydryl compounds in pancreatic tissue of rats with coerulein induced acute pancreatitis. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1991, 46, 10-16.
7. Dąbrowski A., Gabrylewicz A.: Oxygen radicals in acute haemorrhagic pancreatitis in the rat. Evidence for multiorgan oxidative impairment. *Digestion.* 1991, 49, 15-16.
8. Dąbrowski A., Gabrylewicz A.: Rodniki tlenowe w chorobach przewodu pokarmowego. *Medycyna* 2000. 1990, 6, 4-7.
9. Farkas G., Morton J., Nagy Z., Mandi Y., Takacs T., Deli M. A., Abraham C. S.: Experimental acute pancreatitis results in increased blood-brain barrier permeability in the rat: a potential role for tumor necrosis factor and interleukin 6. *Neurosci-Lett.* 1998, 242, 147-150.
10. Folch E., Closa D., Prats N., Gelpi E., Rosello-Catafan J.: Leukotriene generation and neutrophil infiltration after experimental acute pancreatitis. *Inflammation* 1998, 22, 83-93.
11. Gilgenast O., Brandt-Nedelev B., Wiswedel I., Lippert H., Halangk W., Rienekeel T.: Differential oxidative injury in extrapancreatic tissues during experimental pancreatitis. Modification of lung proteins by 4-hydroksynonenal. *Dig. Dis. Sci.* 2001, 46, 932-937.
12. Guice K. S., Oldham K. S., Caty M. G., Johnson K. J., Ward P. A.: Neutrophil-dependent with acute pancreatitis. *Ann. Surg.* 1989, 210, 740-747.
13. Iris F., Benzie F., Strain J. J.: The ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 1996, 239, 70-76.
14. Isaji S., Sato Y., Mizumato R.: Pancreatitis. *Physiopathology and clinical aspects.* Sato P. (wyd.), Yamauchi H. University of Tokyo press. Tokyo 1985, 9.
15. Ledwożyw A., Michalak J., Stepień A., Kędziolka A.: The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta.* 1986, 155, 275-284.
16. Sanfey H., Bulkley G. H., Cameron J. L.: The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann. Surg.* 1984, 200, 405-413.
17. Śledziński Z., Woźniak M., Antosiewicz J., Lezoche E., Familiari M., Bertoli E., Greci L., Brunelli A., Mazera N., Wajda Z.: Protective effect of 4-hydro-Tempo, a low molecular weight superoxide dismutase mimic, on free radical toxicity in experimental pancreatitis. *Int. J. Pancreatol.* 1995, 18, 153-160.
18. Triebing A. T., Długosz J., Brzozowski J., Andrzejewska A., Wereszczyńska U., Gabrylewicz A.: The renal lysosomes in acute experimental pancreatitis in dogs treated prostacyclin (PGI-2). *Patrol. Res. Pract.* 1984, 178, 280-288.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Truchliński, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin; e-mail: jtruchliński@interia.pl