

Rola dootrzewnowego podawania soli fizjologicznej w leczeniu ostrego zapalenia trzustki

BARBARA MADEJ, FRANCISZEK BURDAN, JAROSŁAW DUDKA*, ELŻBIETA RADZIKOWSKA, IWONA ŁUSZCZEWSKA-SIERAKOWSKA**, PIOTR POZNAŃSKI, ROMAN CIECHANEK, WOJCIECH PRAŻMO, RYSZARD MACIEJEWSKI

Katedra i Zakład Anatomii Prawidłowej Człowieka AM, ul. Jaczewskiego 4, 20-950 Lublin

*Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej AM, ul. Jaczewskiego 8, 20-950 Lublin

**Katedra Anatomii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Madej B., Burdan F., Dudka J., Radzikowska E., Łuszczewska-Sierakowska I., Poznański P., Ciechanek R., Prażmo W., Maciejewski R.

Role of peritoneal lavage in treating acute pancreatitis

Summary

The effects of treating acute pancreatitis are still unsatisfactory. The aim of the study was to evaluate the efficacy of peritoneal lavage when treating acute pancreatitis, which was experimentally induced using sodium taurocholate. Isotonic salt solution was injected intraperitoneally three times per day. Serum amylase, lipase activity and urinal amylase activity were measured. Macroscopic images were analyzed and microscopic changes of the pancreas were estimated using Spormann's classification. The results indicate that peritoneal lavage appears to be an efficient method of treating acute pancreatitis.

Keywords: peritoneal lavage, pancreatitis

Ostre zapalenie trzustki (ozt) u ludzi definiowane jest jako zespół zaburzeń ogólnoustrojowych powstałych w wyniku enzymatycznego uszkodzenia gruczołu trzustkowego. Pomimo kilkudziesięciu lat badań stosowane obecnie sposoby leczenia ozt są nadal mało skuteczne (2). Jedną z kontrowersyjnych metod terapeutycznych jest płukanie jamy otrzewnej roztworem fizjologicznym. Ideę tego rodzaju leczenia opracował w 1976 roku Ranson i określił jako „lavage otrzewnowy” (8). Celem metody jest usuwanie tkanek martwiczych trzustki. Ocenia się, że postępowanie tego typu zmniejsza nasilenie i częstość powikłań w układzie oddechowym i w układzie krążenia, obniżając tym samym wczesną śmiertelność (5).

Celem badań była ocena wpływu dootrzewnowego podawania soli fizjologicznej na przebieg doświadczalnie wywoływanego u szczurów ostrego zapalenia trzustki. Efekty terapeutyczne metody oceniano poprzez pomiar aktywności enzymów trzustkowych, makroskopową ocenę narządów jamy brzusznej oraz ocenę histopatologiczną gruczołu trzustkowego.

Materiał i metody

Badania prowadzono na szczurach, samcach rasy Wistar o masie od 250-350 g. Zwierzęta trzymano w klatkach, żywiono dietą standardową. Na dobę przed eksperymentem głodzono je, podając jedynie wodę. Wyodrębniono

3 grupy doświadczalne: K0 – grupa zwierząt zdrowych, które posłużyły do wyznaczenia wartości wyjściowych (norm) badanych w doświadczeniu parametrów biochemicznych i histologicznych – nieoperowane, zdrowe – 30 sztuk; KP – grupa zwierząt, u których wywołano ostre zapalenie trzustki, nie ingerując dalej w jego przebieg – operowane, chore, nieleczone – 150 sztuk; S – grupa zwierząt z wywołanym ostrym zapaleniem trzustki, którym podawano dootrzewnowo 0,9% NaCl – operowane, leczone, 100 szt.

Eksperymentalne ostre zapalenie trzustki wywoływano taurocholanem sodu wg metody Heinkela i Aho (1). Zwierzęta usypiano domięśniową iniekcją ketaminy (Calypsol, Chemical Works of Gedeon Richter LND) w dawce 0,004 g/kg masy ciała. Zabieg wykonywano w warunkach jałowych. Jamę otrzewnową otwierano z cięcia pośrodkowego. Po uwidocznieniu bliższej części dwunastnicy, wprowadzano igłę iniekcyjną 0,5 × 16 mm do przewodu żółciowo-trzustkowego. Miękkimi kleszczykami chirurgicznymi zamykano przewód wątrobowy w pobliżu wnęki. Tuż przy ujściu przewodu żółciowo-trzustkowego do dwunastnicy zakładano podwiązkę 2.0, dociskając igłę i ścianę przewodu. Roztwór taurocholalanu sodu (Sigma, Chemical Co., St. Louis, Missouri) podawano w stężeniu 3 g/100 cm³ soli fizjologicznej w dawce 0,1 cm³/100 g masy ciała. Po zakończeniu iniekcji usuwano kleszczyki, podwiązkę i igłę. Nakłutą ścianę dwunastnicy zaopatrywano szwem kapciuchowym (Plain 4.0). Powłoki jamy brzusznej zamykano warstwowo szwem ciągłym. W 24. godzinie po operacji

rozpoczęto dootrzewnowe iniekcje soli fizjologicznej (1 cm³ co 8 godzin).

Zwierzę znieczulano wziewnie eterem dietylowym i wykonywano torakotomię. Krew do oznaczeń pobierano z lewej komory serca. Następnie szczura usypiano i wykonywano laparotomię. Oceniano makroskopowo narządy jamy brzusznej i resekowano cały gruczoł trzustkowy.

Materiał do badań biochemicznych stanowiła surowica mrożona i przechowywana w temperaturze 245°K nie dłużej niż jeden tydzień. Mocz pobierano przyżyciowo jeden raz dziennie, mrożono w temperaturze 245°K i przechowywano również nie dłużej niż tydzień. W surowicy i w moczu oznaczano aktywność amylazy metodą enzymatyczną przy użyciu odczynników firmy Cormay. Aktywność lipazy oznaczano metodą turbidymetryczną przy użyciu odczynników firmy Roche.

Ocenę histologiczną trzustki wykonywano pobierając cztery wycinki: po jednym z okolicy głowy i trzonu oraz dwa z okolicy ogona. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną, metodą PAS, Azan i błękitem alcyjanowym wodnym. Ocenę preparatów oraz dokumentację fotograficzną wykonano w mikroskopie świetlnym Jenalumar firmy Zeiss. Stopień nasilenia zmian oceniano w skali wg Spornanna i wsp. (10).

Uzyskane dane liczbowe aktywności amylazy i lipazy w surowicy krwi oraz amylazy w moczu poddano analizie statystycznej. Poziomy poszczególnych enzymów w kolejnych dobach doświadczenia w dwóch grupach zwierząt operowanych (tj. KP, S) scharakteryzowano za pomocą zakresu aktywności (min., max.), średniej arytmetycznej – M, odchylenia standardowego – SD, średniego błędu średniej arytmetycznej – SE i współczynnika zmienności – V%. Istotność różnic między grupami w danym okresie doświadczenia sprawdzono za pomocą testu ANOVA. Na podstawie otrzymanych wyników aktywności enzymów w grupie zwierząt kontrolnych nieoperowanych – grupa K0 (30 sztuk), wyznaczono zakresy normy własnej.

Wyniki i omówienie

Ostre zapalenie trzustki wywołano u 250 szczurów, z czego 66 zwierząt padło, uniemożliwiając pobranie materiału do oznaczeń (tab. 1). Ponadto w niektórych przypadkach nie udało się zmierzyć aktywności enzymów z powodu hemolizy czy uszkodzenia próbki. W grupie KP padło 31,3% zwierząt, natomiast w grupie S jedynie 19%. Odsetek padnięć w grupie S był istotnie statystycznie niższy niż w grupie KP (tab. 1).

Aktywności enzymów oznaczono symbolami: $a_m(s)$ – poziom amylazy w surowicy krwi, $a_m(m)$ – poziom amylazy w moczu, $l(s)$ – poziom lipazy w surowicy krwi.

Aktywność amylazy w surowicy krwi. Wyniki analizy poziomów $a_m(s)$ zestawiono w tabeli 2. Dane obejmują grupy zwierząt operowanych od 24. do 144. godziny doświadczenia oraz grupę K0. W grupie S wykazano istotnie statystyczne obniżenie poziomu amylazy w surowicy krwi w porównaniu z grupą KP jedynie w 96. i 120. godzinie doświadczenia (tab. 2).

Aktywność amylazy w moczu. Wyniki analizy aktywności $a_m(m)$ zestawiono w tabeli 3. U zwierząt le-

Tab. 1. Liczba zwierząt operowanych, zwierząt leczonych, liczba wykonanych oznaczeń aktywności enzymów oraz odsetek padnięć do 144. godziny doświadczenia

Grupa	KP	S	Razem	
Liczba zwierząt	150	100	250	
Liczba zwierząt padłych	47	19	66	
Liczba zwierząt, od których pobrano materiał	103	81	184	
Liczba wykonanych analiz	$l(s)$	86	80	166
	$a_m(s)$	86	74	160
	$a_m(m)$	70	64	134
Odsetek padnięć	31,3	19,0		
Porównanie między grupami	KP a S			
	χ^2	4,697		
	p	< 0,05		

czonych – grupa S, stwierdzono istotnie statystycznie obniżenie poziomu amylazy w moczu od 72. do 144. godziny doświadczenia w porównaniu z grupą KP.

Aktywność lipazy w surowicy krwi. Wyniki analizy poziomów $l(s)$ dla grup zwierząt operowanych od 24. do 144. godziny oraz dla grupy K0 zestawiono w tabeli 4. U szczurów leczonych dootrzewnowym podawaniem soli fizjologicznej wykazano istotnie statystyczne obniżenie poziomu lipazy w surowicy krwi w porównaniu z grupą KP jedynie w 48. godzinie doświadczenia.

Ocena makroskopowa narządów jamy brzusznej i ocena mikroskopowa trzustki.

Od 72. godziny doświadczenia obserwowano makroskopowo i mikroskopowo mniejsze nasilenie zmian zapalnych w grupie S w porównaniu z grupą KP. W 96. godzinie doświadczenia stwierdzono również objawy regeneracji, które nasiliły się znacznie w następnej dobie. W 144. godzinie doświadczenia obrazy makro- i mikroskopowe obserwowane w grupie leczonej miały charakter zmian typowych dla przebytego procesu zapalnego.

Modele doświadczalnego zapalenia trzustki u szczurów są często stosowane w badaniach nad etiopatogenezą i terapią ozt u ludzi (4, 9). Typowymi parametrami biochemicznymi, które nadal wykorzystuje się w klinice do diagnostyki i monitorowania zapalenia trzustki jest poziom amylazy i lipazy w surowicy krwi oraz amylazy w moczu. Opinie dotyczące przydatności klinicznej tych enzymów są rozbieżne (3, 6, 7). Pomimo stosowania również innych parametrów biochemicznych, powszechnie uważa się, że jedynie badanie histopatologiczne trzustki oraz makroskopowy obraz narządów jamy brzusznej najlepiej koreluje z nasileniem zapalenia i rokowaniem (3).

W świetle przeprowadzonego badania wydaje się, że skuteczność dootrzewnowego podawania soli fizjologicznej w terapii ostrego zapalenia trzustki nie jest wielka. Istotne obniżenie aktywności enzymów trzustkowych dotyczyło głównie amylazy w moczu. Obni-

Tab. 2. Aktywność amylazy w surowicy krwi

Godz. dośw.	Grupa	n	$a_m(s)$					V%	Wyniki ANOVA	
			min	max	M	SD	SE		\sqrt{MSE}	p
24	KP	14	298	1191	769,3	289,1	77,3	37,6	207,34	a
	S	15	428	1041	784,3	171,3	44,2	21,8		a
48	KP	14	324	1091	880,7	231,1	61,8	26,2	163,56	b
	S	14	544	1013	808,6	134,7	36,0	16,7		b
72	KP	16	321	1493	950,9	261,8	65,5	27,5	196,48	b
	S	13	519	1021	814,2	176,9	49,1	21,7		b
96	KP	18	354	1493	721,7	285,3	67,2	39,5	197,92	b
	S	12	426	621	516,4	61,5	17,8	11,9		a
120	KP	13	277	627	486,2	125,3	34,7	25,8	115,00	c
	S	11	100	618	385,3	136,5	41,2	35,4		b
144	KP	11	257	426	341,2	58,1	17,5	17,0	62,56	b
	S	9	156	401	303,7	78,5	26,2	25,8		b
-	KO	30	168	483	292,1	73,4	13,4	25,1	-	-
Norma: 145,3 do 438,8 U/dl										

Objaśnienia do tabel 2-4: a, b, c – średnie grup różnią się istotnie ($p \leq 0,05$), jeżeli oznaczone są różnymi literami

Tab. 3. Aktywność amylazy w moczu

Godz. dośw.	Grupa	n	$a_m(m)$					V%	Wyniki ANOVA	
			min	max	M	SD	SE		\sqrt{MSE}	p
24	KP	15	665	3688	1433	784	202,4	54,7	497,4	a
	S	15	690	2080	1242	385	99,5	31,0		a
48	KP	14	908	3317	1924	869	232,2	45,2	680,1	b
	S	11	780	3150	1574	728	219,4	46,2		b
72	KP	13	740	3562	2116	891	247,2	42,1	602,3	c
	S	12	650	2700	1227	518	149,4	42,2		b
96	KP	10	1000	3107	2374	644	203,5	27,1	438,8	c
	S	11	320	1552	938	383	115,5	40,8		b
120	KP	9	195	716	365	171	57,0	46,8	103,9	b
	S	8	83	213	133	42	14,7	31,3		a
144	KP	9	69	191	116	37	12,5	32,3	28,3	c
	S	7	38	112	72	26	9,8	35,8		b
-	KO	30	72	411	245,7	112,9	20,6	46,0	-	-
Norma: 19,8 do 471,5 U/l										

Tab. 4. Aktywność lipazy w surowicy krwi

Godz. dośw.	Grupa	n	l(s) (U/l)					V%	Wyniki ANOVA	
			min	max	M	SD	SE		\sqrt{MSE}	p
24	KP	14	13	25	18,14	3,63	0,97	20,0	5,780	a
	S	15	13	35	19,33	5,46	1,41	28,2		a
48	KP	14	41	251	142,86	59,95	16,02	42,0	39,509	b
	S	14	46	170	102,86	32,94	8,80	32,0		a
72	KP	16	47	248	140,25	49,83	12,46	35,5	36,361	b
	S	14	95	240	135,07	35,26	9,42	26,1		b
96	KP	18	15	61	28,89	16,98	4,00	58,8	11,212	b
	S	14	16	31	23,50	4,85	1,30	20,6		b
120	KP	13	11	37	18,15	7,03	1,95	38,7	5,479	b
	S	12	10	29	14,92	5,76	1,66	38,6		b
144	KP	11	3	15	8,27	3,44	1,04	41,6	2,852	b
	S	11	5	15	9,45	2,66	0,80	28,1		b
-	KO	30	2	18	9,87	4,16	0,76	42,1	-	-
Norma: 1,55 do 18,18 U/l										

żenie poziomu innych enzymów było krótkotrwałe i niejednoznaczne. Natomiast na podstawie oceny makroskopowej narządów jamy brzusznej i badania histopatologicznego gruczołu trzustkowego wykazano korzystny wpływ dootrzewnowego podawania fizjologicznego roztworu soli na przebieg doświadczalnego ostrego zapalenia trzustki u szczurów.

Piśmiennictwo

- 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.
- Gotzinger P., Wamser P., Exner R.: Surgical treatment of severe acute pancreatitis: timing of operation is crucial for survival. Surg. Infect. (Larchmt.) 2003, 4, 205-211.
- Madej B., Łuszczewska-Sierakowska I.: Rola enzymów proteolitycznych w terapii ostrego zapalenia trzustki. Medycyna Wet. 2004, 60, 12, 1337-1341.
- Madej B., Łuszczewska-Sierakowska I., Korobowicz A.: Wybrane modele indukcji ostrego zapalenia trzustki u zwierząt – analiza porównawcza i ocena przydatności klinicznej. Medycyna Wet. 2005, 61, 1, 82-85.
- Maciejewski R., Burdan F., Burski K., Madej B., Ziemiakowicz R., Dąbrowski A., Wallner G.: Selected biochemical parameters and ultrastructural picture of pancreas due to Ulinastatin treatment of experimental acute pancreatitis. Exp. Toxic. Pathol. 2005, 56, 305-311.
- Neoptomos J. P., London N. J.: Acute pancreatitis and normoamylaseamia. Letter Ann. Surg. 1990, 212, 648-649.
- Nordestgaard A. G., Wilson S. E., Williams R. A.: Correlation of serum amylase levels with pancreatic pathology and pancreatitis etiology. Pancreas 1988, 3, 159-162.
- Ranson J. H. C., Rifkind K. M., Turner J. W.: Prognostic signs and nonoperative peritoneal lavage in acute pancreatitis. Surg. Gynecol. Obstet. 1976, 143, 209-219.
- Schmidt J., Lewandowski K., Fernandez del Castillo C., Mandavilli V., Compton C., Warsaw A. L., Rattner D. W.: Histopathologic correlates of serum amylase activity in acute experimental pancreatitis. Dig. Dis. Sci. 1992, 37, 1426-1433.
- Spormann H., Sokolowski A., Letko G.: Experimental acute pancreatitis – a qualification of dynamics at enzymic and histomorphologic levels. Pathol. Res. Pract. 1989, 185, 358-362.

Adres autora: dr hab. n. med. Barbara Madej, ul. Kolorowa 5/46, 20-802 Lublin