

WOJCIECH ROWIŃSKI, ANDRZEJ MICHAŁSKI, HANNA ŁUKASIEWICZ,
WALDEMAR OLSZEWSKI, JAN NIELUBOWICZ

BADANIA PATOGENEZY OSTREJ MARTWICY TRZUSTKI

I. TOKSYCZNE DZIAŁANIE SOKU TRZUSTKOWEGO PODAWANEGO DOŻYLNIE

Z Zakładu Chirurgii Doświadczalnej PAN
Kierownik: prof. dr *J. Nielubowicz*

Prowadząc badania etiopatogenezy ostrej martwicy trzustki postanowiliśmy w pierwszym etapie przekonać się, czy podany dożylnie sok trzustkowy jest toksyczny i jakie zmiany w ustroju zależą ściśle od działania samego soku trzustkowego krążącego we krwi.

Doświadczenia przeprowadzono na psach mieszańcach wagi od 6—10 kg, podając im dożylnie różną ilość soku trzustkowego. Sok trzustkowy uzyskano od jednego psa-dawcy, któremu uprzednio wytworzono przetokę trzustkową wg nieco zmodyfikowanej metody Pawłowa (7). Sok zbierano do jałowej butelki przez cewnik wprowadzony do przewodu trzustkowego (ryc. 1). Jałowość soku zapewniano, dodając do niego w stosunku 1 : 5 0,001% roztwór soli sodowej mertiolatu. Zebrany sok przetaczano kroplówką dożylnie psu-biorcy w ciągu 20—30 minut.

Grupa I. 7 psom wstrzykiwano wzrastające dawki soku trzustkowego dla znalezienia ewentualnej dawki śmiertelnej.

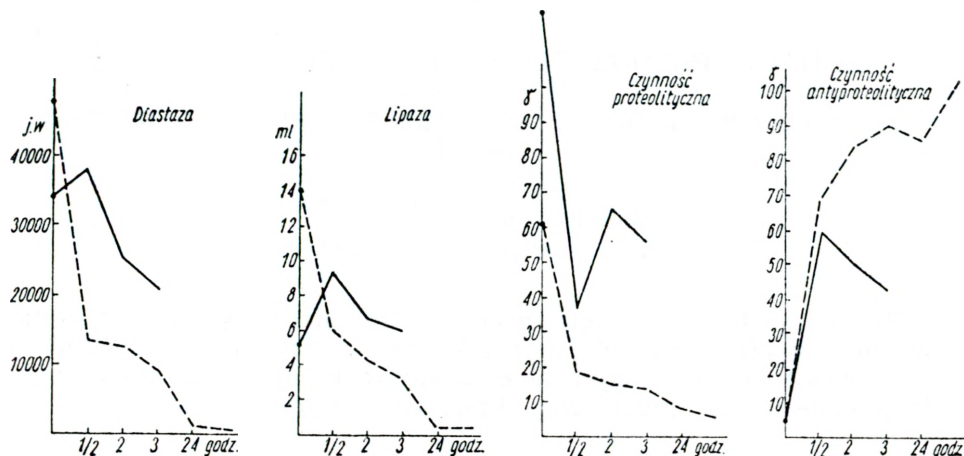
Grupa II. 11 psom podano sok trzustkowy w ilości powyżej 55 ml/kg wagi.

Grupa III. 3 psom podano unieczynniony sok trzustkowy w dawce powyżej 55 ml/kg wagi. Sok unieczynniano ogrzewając go w temperaturze 70°C przez 1 godzinę, a następnie przesączając. Pobrane próbki inaktywowanego w ten sposób soku były zawsze jałowe. W soku tym nie stwierdzało się ani diastazy, ani lipazy a jego czynność proteolityczna wynosiła 24 gamma tyrozyny.

Grupa IV. 3 psom podano dożylnie 0,9% roztwór soli kuchennej z dodatkiem mertiolatu w dawce 55 ml/kg wagi. Chcieliśmy w w ten sposób przekonać się, czy zmiany obserwowane w grupie II nie były spowodowane przetoczeniem dużej ilości płynu lub też toksycznym działaniem samego mertiolatu.

Grupa V. 3 psom przetoczono roztwór 100 mg trypsyny w buforze boranowym wg Michaelisa o pH 8,3. Czynność proteolityczna tego roztworu była równa czynności proteolitycznej wstrzykiwanego uprzednio soku trzustkowego — wynosiła średnio 120 g tyrozyny.

W podawanym dożylnie soku trzustkowym oznaczano diastazę met. Wohlgemutha, lipazę met. Bondiego, czynność proteolityczną i antyproteolityczną met. Geisa. Wartości tych enzymów w soku trzustkowym naszego psa dawcy przedstawiają się następująco: diastaza — 42,154 j. W. (10,240—81,920 j. W.), lipaza — 9,29 ml 0,05 NaOH (0,7—39,5 ml), czynność proteolityczna — 90,4 gamma tyrozyny (11—190 gamma), czynność antyproteolityczna — 0 gamma.



Ryc. 1. ----- aktywność enzymów w soku trzustkowym w grupie I, ----- aktywność enzymów soku trzustkowego w grupie II.

W czasie doświadczenia we krwi zwierzęcia, któremu przetaczano sok, oznaczano diastazę met. Wohlgemutha, lipazę met. Johnsona i Beckusa i czynność proteolityczną i antyproteolityczną osocza met. Geisa (1). Oznaczenia te wykonywano przed wstrzyknięciem soku oraz w 30, 120, 180 min. i w 24 godz. później.

Za prawidłowe wielkości poziomu diastazy, lipazy oraz czynności proteolitycznej i antyproteolitycznej osocza psów przyjęliśmy następujące wartości: diastaza 32—128 j. W.; lipaza 0,1—0,5 ml 0,05 n NaOH; aktywność proteolityczna osocza 10 gama tyrozyny; aktywność antyproteolityczna osocza 90—120 gama tyrozyny.

WYNIKI

W grupie I podawano dożylnie wzrastającą ilość soku trzustkowego od 5 ml/kg wagi do 50 ml/kg wagi. Posiewy wstrzykiwanego soku były zawsze jałowe. Wyniki oznaczeń poziomu diastazy, lipazy, czynności proteolitycznej i antyproteolitycznej osocza przedstawia tab. I.

W czasie wstrzykiwania obserwowano nieznaczne pobudzenie psów; czasem oddawały one bezpośrednio po wstrzyknięciu mocz i kał. Wszystkie psy przeżyły. W badaniu pośmiertnym jednego psa, którego uśpiono po kilku dniach obserwacji, nie stwierdzono żadnych zmian charakterystycznych. W badaniu mikroskopowym wycinków narządów (trzustka, wątroba, nerki) nie stwierdzono odchyłań. Stwierdzono, że dawka śmiertelna podanego dożylnie soku trzustkowego wynosi dla psa 55 ml/kg wagi.

Tabela I

	Norma	1/2 godz.	2 godz.	3 godz.	24 godz.	72 godz.
Diastaza	128 j. W (64—256)	13.995 j. (20,48— 32,768)	12.629 j. (2048— 16384)	8.874 j. (4096— 16384)	1.536 j. (1024— 40,96)	149 j. (128—256)
Lipaza	0,15 ml (0,01—0,7)	6,07 (2,15—8,8)	4,31 ml (0,4—6,9)	3,21 ml (0,3—6,0)	0,49 ml (0,01—1,2)	0,54 ml (0,01—1,75)
Czynność proteol.	5,3 γ (3—8)	18 γ (7—30)	15,1 γ (7,20)	14 γ (3—23)	8,6 γ (3—16)	5,6 γ (1—11)
Czynność antyprot.	97,7 γ (83—108)	68,9 γ (7,89)	83,4 γ (77—106)	89,2 γ (72—109)	85,7 γ (73—92)	102,7 γ (88—119)

W grupie II, opierając się na wynikach grupy I, 11 psom podano sok trzustkowy dożylnie w dawce śmiertelnej (od 55 ml/kg wagi do 63 ml/kg wagi). Posiewy wstrzykiwanego soku były zawsze jałowe. Wyniki oznaczeń poziomu diastazy, lipazy oraz czynności proteolitycznej i antyproteolitycznej osocza po wstrzyknięciu dawki śmiertelnej przedstawia tab. II.

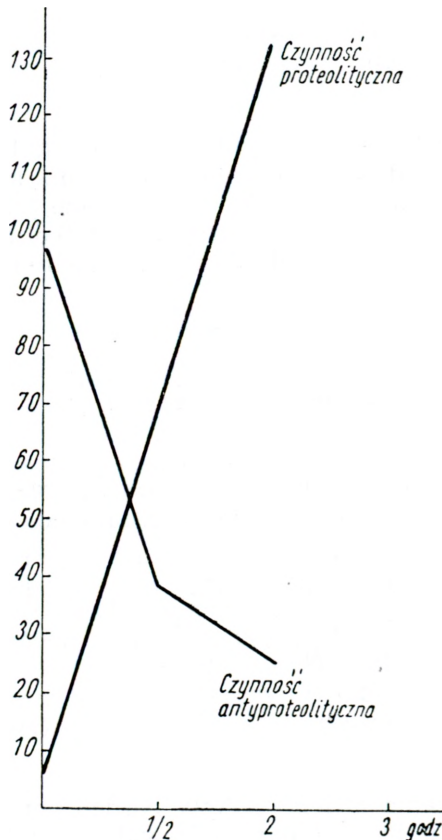
Tabela II

	Norma	1/2 godz.	2 godz.	3 godz.	24 godz.
Diastaza	169 j. W	33.043 j. W (8192—81920)	25.371 j. W (8192—32,768)	20.650 j. W (4096—32,768)	
Lipaza	0,3 ml	9,19 ml (4,2—12,8)	6,75 ml (3,2—8,7)	6,1 ml (5,8—11)	
Czynność proteolit.	4,5	36,9 (10—133)	65,3 (10—203)	55 (10—104)	
Czynność antyprot.	98,6	58,8 (0—97)	49,3 (0—101)	42,5 (21—101)	

W czasie wstrzykiwania zwierzęta były bardzo pobudzone. Często już pod koniec przetoczenia (20—25 min.) oddawały mocz i płynny stolec. Po około 30 minutach następował znaczny spadek ciśnienia, psy oddawały dość duże ilości moczu i płynnego, cuchnącego stolca, często z domieszką krwi. Wszystkie psy wymiotowały treścią żołądkową z domieszką żółci i krwi. Wszystkie psy padły. Okres przeżycia wynosił średnio od 14 do 16 godzin (30 min. 1 pies, od 4 do 24 godzin — 9 psów, dłużej niż 24 godziny — 1 pies).

Badanie pośmiertne przeprowadzono bezpośrednio lub w kilka godzin po zgonie zwierzęcia. We wszystkich przypadkach stwierdzono silne przekrwienie narządów jamy brzusznej (głównie wątroby i nerek); u 9

psów stwierdzono martwicę tkanki tłuszczowej rozsianą w całej jamie brzusznej i w obrębie klatki piersiowej (osiedzie, opłucna); u 7 psów stwierdzono płyn krwisty w jamie brzusznej w ilości od 50 do 200 ml z wysokim poziomem diastazy (średnio około 20 000 j. W.) i bardzo wysoką czynnością proteolityczną (200—600 gamma). U 5 psów stwierdzono wypełnienie układu chłonnego naczyń i węzłów chłonnych zawartością krwistą. Szczególnie wyraźnie widoczne było wypełnienie układu chłon-



Ryc. 2. Średnia z 4 psów I grupy.

nego krezki jelita czczego. W 3 przypadkach stwierdzono obfity wylew krwawy pod błonę surowiczą pęcherzyka żółciowego.

Badaniem mikroskopowym stwierdzono: silne przekrwienie wątroby i nerek, bez zmian anatomicznych w kanalikach nerkowych. Przekrwienie węzłów chłonnych. Znaczny wylew podsurowicy w obrębie pęcherzyka żółciowego.

W grupie III w czasie wstrzykiwania lub wkrótce po nim zwierzęta oddawały mocz i sformowany stolec, poza tym nie obserwowano żadnych niepokojących objawów. Wszystkie zwierzęta przeżyły. Poziomy diastazy, lipazy i czynność proteolityczna i antyproteolityczna osocza w okresie obserwacji (3 dni) nie ulegały zmianie.

W grupie IV wstrzykiwany 0,9% roztwór soli kuchennej z dodatkiem mertiolatu nie był toksyczny. Wszystkie zwierzęta przeżyły.

W grupie V w czasie wstrzykiwania nie obserwowano żadnych niepokojących objawów. Psy oddawały niewielką ilość moczu i stolec. Badanie czynności proteolitycznej i antyproteolitycznej osocza oraz poziomu diastazy i lipazy we krwi zwierzęcia, któremu wstrzykiwano trypsynę, przedstawia się podobnie jak w grupie I.

OMÓWIENIE

Porównując wyniki uzyskane w grupie I i II zwraca uwagę, że we krwi zwierząt, które przeżyły, poziom diastazy i lipazy był zawsze niższy od poziomu diastazy i lipazy soku wstrzykiwanego (ryc. 1). U wszystkich zwierząt, które padły (grupa II), poziom diastazy i lipazy w surowicy krwi po 30 minutach od wstrzyknięcia był wyższy od poziomu diastazy i lipazy we krwi w stosunku do ilości zawartych we wstrzykiwanym soku nie są w soku wstrzykiwanym (ryc. 1). Przyczyny wzrostu diastazy i lipazy całkowicie jasne (3).

Porównując wyniki czynności proteolitycznej osocza psów grupy I i II zwraca uwagę fakt, że u wszystkich zwierząt, które przeżyły, czynność proteolityczna osocza była niewiele wyższa od poziomu prawidłowego, a zawsze niższa od czynności proteolitycznej wstrzykiwanego soku (ryc. 1). Czynność antyproteolityczna osocza tych psów była zawsze wysoka. Świadczyło to, że u zwierząt tych istniała równowaga w zakresie układu proteolitycznego osocza.

U 4 zwierząt z tej samej grupy, które padły po wstrzyknięciu soku w bardzo krótkim czasie czynność proteolityczna osocza była wyższa od czynności proteolitycznej w soku wstrzykiwanym. Układ krzywych czynności proteolitycznej i antyproteolitycznej osocza był bardzo charakterystyczny (ryc. 1). W miarę spadku czynności antyproteolitycznej (i wzrostu proteolitycznej) dochodziło do coraz wyraźniejszego zaburzenia układu równowagi tego układu. W chwili, gdy czynność antyproteolityczna spadła do wartości bardzo niskich, zwierzęta padły.

Nie udało się znaleźć wytłumaczenia wzrostu czynności proteolitycznej osocza u psów, które padły. Być może, wskutek działania trypsyny dochodziło do przejścia plazminogenu w plazminę i uczynienia procesu fibrynolizy. Jednak według *Gibińskiego* (4) nie udowodniono działania fibrynolitycznego trypsyny.

Ilość soku trzustkowego u człowieka wydzielana w warunkach prawidłowych wynosi około 1 litra. Nie wiadomo, ile wydziela się soku trzustkowego u człowieka w przebiegu ostrej martwicy trzustki i jakie są główne drogi przedostawania się enzymów trzustkowych do krążenia.

Trudno więc odpowiedzieć na zasadnicze pytanie, co było przyczyną śmierci zwierząt, którym wstrzykiwano dużą ilość soku trzustkowego. Wydaje się, że nie jest to poszczególny enzym. Poza tym wyjaśnień wymagają zmiany nerkowe i wybitne wypełnienie układu chłonnego, które spotykano prawie u wszystkich psów, które padły.

WNIOSKI

1. Sok trzustkowy podany dożylnie w dawce 55 ml/kg wagi w czasie 20—25 minut powoduje śmierć zwierzęcia. Jest to ilość soku, którą pies może wydzielić co najwyżej w ciągu doby.

2. Obserwowane objawy kliniczne po podaniu soku wydają się być związane z działaniem grupy enzymów soku trzustkowego. Nie udało się jednak ustalić, który z enzymów soku trzustkowego gra w tym zasadniczą rolę.

3. Dożylne podanie dużej ilości trypsyny nie powodowało zgonu zwierzęcia.

V. Ровински, А. Михальски, Г. Лукасевич, В. Ольшевски, Я. Нелюбович

ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОГЕНЕЗА ОСТРОГО НЕКРОЗА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Содержание

Эксперименты проводили на собаках, вводя им внутривенно разное количество панкреатического сока. Этот сок получили от собаки-донора асептическим методом. Эксперименты проводили в 5 группах. В I группе 7 собакам вводили возрастающие дозы панкреатического сока, с целью обнаружить предположительную смертельную дозу. Во II группе — 11 собакам вводили панкреатический сок в количестве свыше 55 мл/кг веса. В III группе 3 собакам ввели инактивированный панкреатический сок в дозе свыше 55 мл/кг веса. В IV группе 3 собакам ввели внутривенно 0,9% раствор поваренной соли с прибавлением мертиолат. В V группе 3 собакам произведено вливание раствора 100 мг трипсина в боратном буфере по Михаэлису.

Получены следующие результаты: панкреатический сок введенный внутривенно в дозе 55 мл/кг веса в течение 20—25 мин. вызывал смерть животного. В остальных группах все животные остались живыми.

Наблюдаемые клинические симптомы после введения сока, кажется, связаны с действием группы ферментов панкреатического сока. Однако не удалось установить, который из ферментов панкреатического сока играет в этом основную роль.

W. Rowiński, A. Michalski, H. Łukasiewicz, W. Olszewski, J. Nielubowicz.

STUDIES ON PATHOGENESIS OF THE ACUTE PANCREATIC NECROSIS

Summary

Experimental investigations, consisting in intravenous administration of various amounts of the pancreatic juice were carried out in dogs. Pancreatic juice was taken sterilely from the dog-donor. Experiments were done in 5 groups. In the 1st group gradually increasing amounts of the pancreatic juice were administered to 7 dogs, with purpose to determine eventual lethal dose. In the 2nd group, 11 dogs received pancreatic juice in amount more than 55 ml/kg of body weight. In the 3rd group, 3 dogs were administered inactivated pancreatic juice, also in amount more than 55 ml/kg of body weight. In the 4th group 3 dogs were administered intravenously 0,9% of natrium chloride solution with merthiolate added. In the 5th group 3 dogs received transfusion of 100 mg of trypsin, dissolved in borate buffer solution (acc. to Michaelis).

Following results were obtained: pancreatic juice administered intravenously in amount of 55 ml/kg of body weight, during some 20—25 minutes, caused death of the experimental animals. All remaining animals survived.

Clinical symptoms observed after pancreatic juice administration seem to be causally joined with the action of the group of pancreatic enzymes. Attempts to determine which of these enzymes are responsible for the described effect, failed.

PIŚMIENNICTWO

1. *Dines G., Geis A.*: Experimentally produced closed loop obstruction in dogs. *Surgery*, 1959, 45, 751. — 2. *Dumont A., Doubilltt H., Mulholland J.*: Lymphatic pathway of pancreatic secretion in man. *Ann. Surg.*, 1960, 152, 403. — 3. *McGeachin R., Gleason J., Adams M.*: Amylase distribution in extra pancreatic, extrasalivary tissues. *Arch. Bioch.*, 1958, 75, 403. — 4. *Gibiński K.*: Rozdz. w pracy *Enzymologia kliniczna* pod red. *E. Szczeklika*. PZWL, 1963. — 5. *Homańska-Szafranowa H., Oleksy J.*: Elektroforetyczny rozdział trzymów soku trzustkowego. *Act. Bioch. Polon.*, 1956, 3, 633. — 6. *Jankowski T.*: Choroby trzustki. PZWL, 1962. — 7. *Michalski A., Olszewski W., Rowiński W.*: Sposób wytwarzania długotrwałej przetoki trzustkowej. *Pol. Przegl. Chir.*, 1965.

Pracę nadesłano: 13. I. 1964

Adres autora: Warszawa, ul. Nowogrodzka 59