

MARIA ROSNOWSKA, WALDEMAR OLSZEWSKI, IRENEUSZ POMASKI,  
WOJCIECH ROWIŃSKI, JANUSZ KAÇKI, MAREK SKOŚKIEWICZ,  
HANNA ŁUKASIEWICZ, JERZY SOKOŁOWSKI, JERZY POLAŃSKI,  
JAN NIELUBOWICZ

## CZYNNOŚĆ WĄTROBY I NIEKTÓRE WSKAŹNIKI BIOCHEMICZNE PODCZAS 3-GODZINNEJ PERFUZJI POZAUSTROJOWEJ U CHOREGO Z OSTRĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ WĄTROBY \*)

Z Zespołu Chirurgii Doświadczalnej i Transplantologii Centrum Medycyny  
Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik: prof. dr med. J. Nielubowicz  
i z I Kliniki Chirurgicznej AM w Warszawie  
Kierownik: prof. dr med. J. Nielubowicz

*Autorzy opisują zachowanie się niektórych wskaźników biochemicznych w przebiegu pozaustrojowej perfuzji wątroby świńskiej u chorego z ostrą niewydolnością wątroby, która wystąpiła w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby. Autorzy stwierdzają, że podczas perfuzji dochodzi do zaburzeń w równowadze kwasowo-zasadowej wyrażających się niewyrównaną alkalozą oddechową, której towarzyszy spadek poziomu potasu. Poziom bilirubiny podczas perfuzji ulega znacznemu obniżeniu, poziom kwasu pirogronowego i mlekowego są podwyższone. Dochodzi także do spadku aktywności aminotransferazy alani nowej. Podwyższenie aktywności aminotransferazy asparaginianowej wydaje się być w tym przypadku uwarunkowane wzrostem frakcji mitochondrialnej. Potwierdza to także wzrost aktywności typowego enzymu mitochondrialnego, jakim jest dehydrogenaza glutaminianowa. Podczas zabiegu daje się zaobserwować duże zużycie glukozy przez chorego, co zmusza do stałej kontroli glikemii w tego rodzaju przypadkach.*

W czasie 3-godzinnej perfuzji wątroby świni podłączonej do krążenia chorego z ostrą niewydolnością wątroby wykonano szereg badań laboratoryjnych. Praca niniejsza przedstawia wyniki tych badań. Przebieg perfuzji i sposób jej wykonania przedstawione są w osobnej pracy.

### MATERIAŁ I METODYKA

U chorego J. R. lat 40, przebywającego w Klinice Chorób Zakaźnych z powodu wirusowego zapalenia wątroby (w z. w.) wystąpiła ostra niewydolność wątroby. W tym stanie chory został przeniesiony do Kliniki Chirurgicznej celem wykonania perfuzji wątroby. W chwili przyjęcia chory był nieprzytomny, nie reagował na głos i nie spełniał poleceń. Chory miał żółtaczkę, wątroba wystawała na około

\*) Praca częściowo subsydiowana przez VI Wydział PAN.

1,5—2 palce spod prawego łuku żeberowego. Choremu podłączono heterogenną wątrobę dwukrotnie, pierwszego dnia na okres 3 godzin.

U chorego podczas perfuzji wykonano badania aktywności aminotransferaz (AspAT, AspAT-IIR, AlAT), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i glutaminianowej (GLDH), fosfatazy zasadowej (AP), oznaczano poziom bilirubiny, sodu, potasu i chloru, ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla ( $p\text{CO}_2$ ), stężenie dwuwęglanów ( $\text{HCO}_3^-$ ), oraz stężenie jonów wodorowych krwi (pH). Poza tym oznaczano poziom kwasu pirogronowego i mlekowego, amoniaku i mocznika. Do badania pobierano żółć wydzieloną przez podłączoną wątrobę i płyn Ringera z pojemnika, w którym była umieszczona podłączona wątroba świńska. Wydzielaną żółć zbierano co godzinę do osobnego cylinderka. W każdej z trzech porcji mierzono objętość, stężenie bilirubiny i aktywność enzymów AspAT AlAT i AP. W badanym płynie Ringera oznaczano poziom bilirubiny, aktywność AspAT, AlAT, LDH, GLDH i AP.

Aktywność aminotransferaz oznaczano kolorymetryczną metodą podaną przez *Umbreita* i wsp. (10). Za wartości prawidłowe przyjęto aktywność do 40 j/ml dla AspAT i 30 j/ml dla AlAT. Frakcję AspAT-IIR oznaczano po wytrąceniu części aktywności rywanolem techniką podaną przez *Krawczyńskiego* i wsp. (6). Aktywność dehydrogenaz oznaczano metodą spektrofotometryczną wg *Bergmeyera* (1) używając do odczytu spektrofotometru Unicam SP 500. Jako wartości prawidłowe przyjęto dla LDH aktywność 195 mIU i dla GLDH do 2 mIU. Fosfatazę zasadową oznaczano używając jako substratu p-nitro-fenylfosforanu sodu (2). W surowicy zdrowego człowieka aktywność tego enzymu nie przekracza 43 IU. Poziom bilirubiny oznaczano met. *Malloy* i *Evelyn* (8). Jako wartości prawidłowe przyjęto poziom do 1,2 mg/100 ml surowicy. Elektrolity oznaczano met. fotometrii płomieniowej, posługując się fotometrem firmy Zeiss. Jako wartości prawidłowe przyjęto stężenie sodu w surowicy do 132—143, potasu od 3,6—5,6 i chloru od 96 do 106 mEq/l. Ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla oraz pH krwi oznaczano w aparacie Astrupa. Stężenie dwuwęglanów wyliczano z nomogramu. Do badania tych wskaźników pobierano krew tętniczą. Jako wartości prawidłowe przyjęto dla  $p\text{CO}_2$  — 40 mmHg, dla pH wartości od 7,35 do 7,45 i stężenie dwuwęglanów 24—27 mEq/l. Kwas pirogronowy oznaczano met. *Friedemann* i *Hougen* (3), przyjmując jako wartości prawidłowe stężenie we krwi do 1,2 mg/100 ml. Kwas mlekowy oznaczano kolorymetryczną metodą podaną przez *Homolkę* (4) z górną granicą dla wartości prawidłowych do 29 mg/100 ml. Amoniak oznaczano dyfuzyjną metodą podaną przez *Jonany* i *Reinier* (5) wg której wartości u ludzi zdrowych nie przekraczają 40 gamma/100 ml. Mocznik oznaczano met. *Kowarsky'ego*, podaną przez *Homolkę* (4) — wartości prawidłowe do 40 mg/100 ml.

Żółć z perfudowanej wątroby przed wykonaniem badań rozcieńczano stokrotnie. Płyn Ringera z pojemnika, w którym była zanurzona wątroba przed badaniem wirowano. Do dalszych badań używano supernatantu.

Po podłączeniu choremu wątroby świńskiej podano w kroplówce dożylniej glukozę\*). Jednak ze względu na duże zużycie glukozy i duże wahania jej poziomu kontrolowano poziom cukru we krwi co 30 minut. Poziom glukozy oznaczano kolorymetryczną metodą z użyciem o-toluidyny.

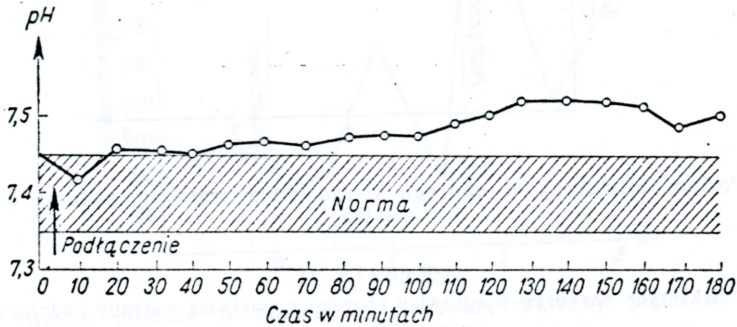
Podczas perfuzji chory otrzymał heparynę i inhibitory fibrynolizy. Występujące zaburzenia krzepnięcia podczas perfuzji są omówione w oddzielnej pracy (7).

\*) Szybkość kroplówki regulowano w zależności od poziomu cukru we krwi. W obawie przed hypoglikemią starano się utrzymać poziom glukozy we krwi na wysokości nie niższej niż 200 mg/100 ml.



## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Podczas perfuzji stężenie jonów wodorowych we krwi stale zmniejszało się (przesuwanie się odczynu krwi w kierunku zasadowym). Po pierwszej godzinie od chwili podłączenia wątroby wystąpiła alkalozia oddechowa, która wyrażała się początkowo niewielkim spadkiem  $pCO_2$  i wzrostem pH do 7,47. W tym okresie stężenie dwuwęglanów utrzymywało się w granicach wartości prawidłowych. Jednak po 2 godzinach perfuzji doszło do dalszego spadku  $pCO_2$ , któremu towarzyszył wzrost stężenia dwuwęglanów. Zmiany stężenia jonów wodorowych we krwi podczas pozaustrojowej perfuzji przedstawia ryc. 1-a.



Ryc. 1. pH krwi tętniczej u chorego z martwicą wątroby podczas 3-godzinnej perfuzji.

Narastającej alkalozie towarzyszył stosunkowo niski poziom potasu, przy niewielkim podwyższeniu poziomu sodu i niezmiennym poziomie chloru (tabela I).

Tabela I

Stężenie elektrolitów u chorego z martwicą wątroby, podczas 3-godzinnej perfuzji

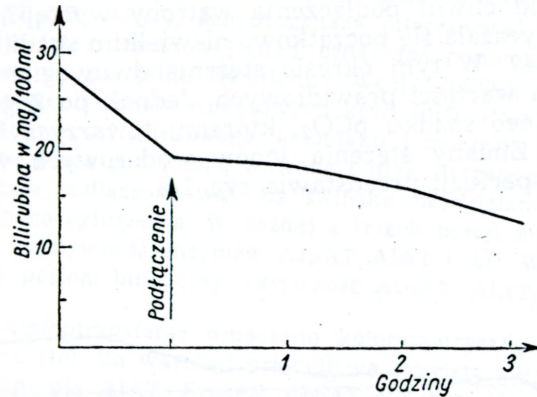
Czas w godzinach	Na <sup>+</sup> mEq/l	K <sup>+</sup> mEq/l	Cl <sup>-</sup> mEq/l
8 <sup>00</sup>	131	4,3	98
początek perfuzji	140	3,5	95
po 1 godzinie	138	3,7	97
po 2 godzinie	139	3,6	97
po 3 godzinie	148	3,4	98

Opisanym powyżej zmianom towarzyszył prawidłowy poziom amoniaku we krwi, wahający się podczas 3-godzinnej perfuzji w granicach 20—40 gamma/100 ml.

Poziom bilirubiny we krwi chorego podczas perfuzji przedstawia ryc. 2.

Po podłączeniu choremu wątroby zwierzęcej poziom bilirubiny we krwi obniżał się stopniowo z wartości wyjściowych 28,3 mg/100 ml do 12,4 mg/100 ml, co stanowiło 43% wartości początkowej.

Aktywność enzymów we krwi chorego podczas perfuzji narastała, co jest szczególnie widoczne w pierwszej godzinie (tab. II).

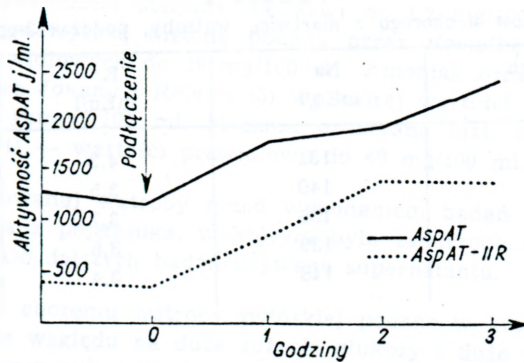


Ryc. 2. Poziom bilirubiny u chorego z martwicą wątroby podczas 3-godzinnej perfuzji.

Tabela II

Aktywność niektórych enzymów w surowicy chorego z martwicą wątroby podczas 3-godzinnej perfuzji wątroby

Czas w godz.	AspAT	AspAT-IIR	AlAT	GLDH	LDH	AP
8 <sup>00</sup>	1260	400	2400	18,4	2480	76
początek perfuzji	1100	380	2800	24,2	4200	68
po 1 godzinie	1670	800	1000	24,0	6840	71
po 2 godzinie	1940	1420	400	29,1	8400	64
po 3 godzinie	2500	1400	400	30,1	4200	58

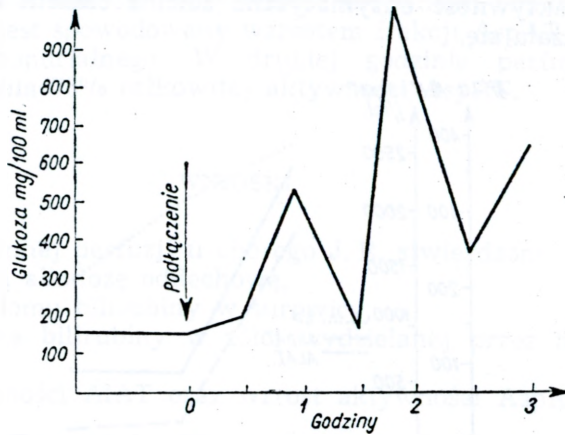


Ryc. 3. Aktywność AspAT i AspAT-IIR u chorego z martwicą wątroby podczas 3-godzinnej perfuzji.

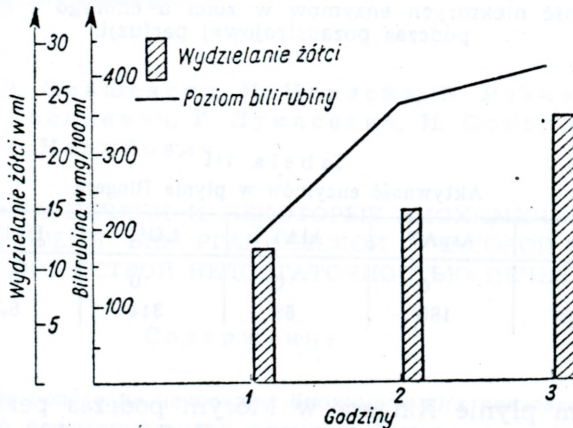
Pod koniec perfuzji aktywność AlAT, LDH i AP obniża się, nie zmienia się natomiast aktywność AspAT, AspAT-IIR i GLDH. Stosunek AspAT/AlAT czyli tzw. wskaźnik de Ritisa w chwili podłączenia wynosił 0,37, po pierwszej godzinie 1,67, po drugiej 4,85 i po trzeciej 6,25. Wzrost wskaźnika de Ritisa był spowodowany z jednej strony stałym

wzrostem aktywności AspAT, z drugiej spadkiem aktywności AlAT w surowicy chorego. Wzrostowi całkowitej aktywności AspAT towarzyszył wzrost aktywności frakcji AspAT-IIR, jak to widać na ryc. 3.

Poziom kwasu pirogronowego i mlekowego w pierwszej godzinie perfuzji był podwyższony i wynosił 2,1 mg/100 ml i 41 mg/100 ml. Po 3 godzinach perfuzji poziom kwasu pirogronowego wynosił 3,2 mg/100 ml, a poziom kwasu mlekowego 52 mg/100 ml.



Ryc. 4. Poziom glukozy u chorego z martwicą wątroby podczas 3-godzinnej perfuzji.



Ryc. 5. Wydzielanie żółci i poziom bilirubiny u chorego z martwicą wątroby podczas 3-godzinnej perfuzji.

Przez cały czas perfuzji w obawie przed hypoglikemią chory otrzymał 1,5 l. 5% glukozy w kroplówce dożylniej. Pomimo względnie stałej szybkości kroplówki wahania w poziomie cukru były dość duże, a badanie stężenia glukozy co 30 minut wykazywało duże różnice poziomu między próbami. Zachowanie się glikemii podczas perfuzji jest przedstawione na ryc. 4.

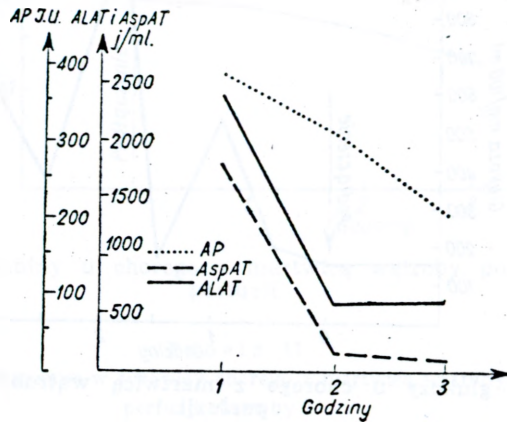
Podczas perfuzji podłączona wątroba wydzieliła około 57 ml żółto-brunatnej żółci. Pierwsza porcja żółci po 1 godzinie była niezupełnie przejrzysta. Odczyn wydzielanej żółci był zasadowy i wynosił 8,7. Poziom



bilirubiny w badanej żółci był znacznie podwyższony i narastał w czasie trwania perfuzji. Wydzielanie żółci i poziom zawartej bilirubiny przedstawia ryc. 5.

Aktywność wydzielanych enzymów w poszczególnych porcjach wydzielanej żółci widoczna jest na ryc. 6.

Jak widać aktywność enzymatyczna żółci z czasem trwania perfuzji wyraźnie obniżała się.



Ryc. 6. Aktywność niektórych enzymów w żółci u chorego z martwicą wątroby podczas pozaustrojowej perfuzji.

Tabela III  
Aktywność enzymów w płynie Ringera

Płyn Ringera	AspAT	AlAT	LDH	DLDH	AP
przed perfuzją	0	0	0	0	0
o 3 godz. perfuzji	180	68	344	8,7	0

W pobranym płynie Ringera w którym podczas perfuzji zanurzona była wątroba poziom bilirubiny wynosił 3,8 mg/100 ml. Aktywność enzymów AspAT, AlAT, LDH i GLDH przedstawia tab. III.

Następnego dnia wykonano u chorego ponownie perfuzję, wyniki przeprowadzonych badań były zbliżone do otrzymanych powyżej.

Opisywana podczas pierwszej perfuzji alkalozą była bardziej zaznaczona, a spadek bilirubiny i wzrost aktywności AspAT jeszcze wyraźniejszy. Po wykonaniu drugiej perfuzji stan chorego poprawił się.

Chory przed i podczas perfuzji pomimo utrzymującej się przez kilka dni śpiączki wykazywał prawidłowy poziom amoniaku we krwi. Wydaje się, że w tym przypadku zaburzenia amoniakogenezy nie odgrywały istotnej roli.

Narastająca podczas perfuzji alkalozą może być uwarunkowana nieprawidłowością inaktywacji estrogenów i progesteronu, które pobudzają ośrodek oddechowy, powodując wzrost utraty  $pCO_2$  i przesunięcie pH krwi w kierunku bardziej zasadowym.

Aktywność niektórych enzymów podczas perfuzji wzrastała. Fakt ten jest trudny do wytłumaczenia. Przypuszczenia uwalniania się tak dużej ilości enzymów z podłączonej wątroby zwierzęcej nie znalazło potwierdzenia w pracach doświadczalnych na zwierzętach. Z drugiej znów strony aktywność aminotransferazy alaninowej w przebiegu perfuzji spadła do 16% wartości wyjściowych, co spowodowało z kolei przy wzroście aktywności aminotransferazy asparaginianowej uzyskanie wysokich wartości wskaźnika de Ritisa. Ten duży wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej jest spowodowany wzrostem frakcji AspAT-IIR, a więc izoenzymu mitochondrialnego. W drugiej godzinie perfuzji frakcja AspAT-IIR stanowiła 73% całkowitej aktywności AspAT.

#### WNIOSKI

W czasie 3-godzinnej perfuzji u chorego J. R. stwierdzono:

- 1) niewyrównaną alkalozę oddechową,
- 2) obniżenie poziomu bilirubiny w surowicy,
- 3) wzrost stężenia bilirubiny w żółci wydzielanej przez heterogenną wątrobę,
- 4) spadek aktywności AlAT oraz wzrost aktywności AspAT, AspAT-IIR i GLDH.

Duże zużycie glukozy przez chorego podczas позаustrojowej perfuzji zmusza do bardzo starannej kontroli glikemii i stałego uzupełniania niedoboru cukru we krwi chorego.

М. Росновска, В. Ольшевски, И. Помаски, В. Ровиньски,  
Е. Концки, М. Скоськевич, Г. Лукасевич, И. Соколовски,  
И. Полянски, И. Нелюбович

#### ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПЕЧЕНИ И НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВО ВРЕМЯ ВНЕОРГАНИЧЕСКОЙ 3-ЧАСОВОЙ ПЕРФУЗИИ У БОЛЬНОГО ОСТРОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПЕЧЕНИ

#### Содержание

Авторы описывают поведение некоторых биохимических показателей в течение внеорганической перфузии свиной печени у больного острой недостаточностью печени, которая возникла в результате вирусного воспаления печени. Авторы констатируют, что во время перфузии появляется нарушение кислотно-щелочного равновесия, проявляющееся декомпенсированным дыхательным алкалозом, сопровождающимся понижением уровня калия. Уровень билирубина при перфузии значительно понижается, уровень же пировиноградной и молочной кислоты повышается. Понижается также активность аланин-аминотрансферазы. Повышение активности аспарагин-аминотрансферазы кажется в этом случае обусловлено увеличением митохондриальной фракции. Подтверждает это также повышение активности типичного митохондриального фермента, каким является глутамин-дегидрогеназа. Во время вмешательства наблюдается большое потребление больным глюкозы, что заставляет в этого рода случаях постоянно контролировать гликемию.

M. Rosnowska, W. Olszewski, I. Pomaski, W. Rowiński, J. Kącki, M. Skośkiewicz, H. Łukasiewicz, J. Sokołowski, J. Polański, J. Nielubowicz

LIVER FUNCTION AND SELECTED BIOCHEMICAL PARAMETERS DURING  
3-HOURS EXTRABODY PERFUSION IN PATIENT WITH ACUTE LIVER  
FAILURE

Summary

Some biochemical parameters during extra-body perfusion of pig liver with blood of the patient with acute liver failure were described. The liver failure was a complication of virus hepatitis. During perfusion there was abnormalites in acid-base equilibrium manifested by noncompensated respiratory alcalosis with hypopotassemia.

The serum bilirubin level decreased while pyruvate and lactate concentrations increased. The serum alanine-aminotransferase activity was lower than in normals. The serum aspartate aminotransferase activity was higher and it appeared that this increase was caused by mitochondrial fraction. This suggestion was confirmed by the observation that in this condition the glutamate dehydrogenase activity (typical mitochondrial enzyme) was also elevated. During perfusion the increase of glucose uptake by the patient was observed. The serum glucose concentration should be then continously controlled.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bergmayer H.*: Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie, G.H. B.H., 1963. — 2. *Bessey O., Lousy D., Brook A.*: J. Biol. Chem., 1946, 164, 321. — 3. *Friedmann T., Stangen G.*: J. B. C., 1943, 147, 415. — 4. *Homolka I.*: Diagnostyka Biochemiczna, PZWL, Warszawa, 1958. — 5. *Jonany J., Reynier M.*: Anesth. Analg. Reanim, 1959, 16, 393. — 6. *Krawczyński J., Rosnowska M., Makowski A.*: Dtsch. Ges. 1967, 22, 213. — 7. *Łukasiewicz M. i wsp.*: Pol. Przegl. Chir. (w druku). — 8. *Malloy H., Evelyn K.*: J. Biol. Chem., 1937, 119, 480. — 9. *Nielubowicz J. i wsp.*: Pol. Przegl. Chirurg. (w druku). — 10. *Umbreit W., Kingsley W., Schaffert R., Sipler M.*: J. Lab. Clin. Med., 1957, 49, 454.

Wpłynęło dnia: 23. XII. 1969

Adres autorów: Dr Maria Rosnowska, I Klinika Chirurgiczna AM w Warszawie