

**Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
Wydział Nauk o Zdrowiu Instytutu Fizjoterapii
Zakład Fizjologii Medycznej**

Joanna Szklarczyk

Rozprawa doktorska

**UDZIAŁ NERWU BŁĘDNEGO W OSTRYM ZAPALENIU TRZUSTKI
U SZCZURA**

**Opiekun naukowy:
Prof. dr hab. med. Jolanta Jaworek**

**Praca została wykonana w Zakładzie Fizjologii Medycznej Wydziału Nauk
o Zdrowiu oraz w Katedrze Fizjologii Wydziału Lekarskiego UJ CM**

**Kierownik Zakładu Fizjologii Medycznej
Prof. dr hab. med. Jolanta Jaworek**

Kraków 2011

*Pani Profesor dr hab. med. Jolancie Jaworek
Promotorowi mojej pracy doktorskiej
składam gorące podziękowania
za okazaną życzliwość, pomoc i cierpliwość oraz
cenne uwagi i wskazówki w trakcie pisania pracy*

*Panu Profesorowi dr hab. med. Wiesławowi Pawlikowi
Kierownikowi Katedry Fizjologii latach 2002 – 2009
składam podziękowania
za umożliwienie przeprowadzenia badań*

*Panu Profesorowi dr hab. med. Piotrowi Thorowi
Kierownikowi Katedry Patofizjologii
składam podziękowania za pomoc w realizacji pracy*

Spis treści:

Spis treści	5
Wykaz skrótów	7
Rozdział I Wstęp	9
1.1. Nerw błędny	9
1.1.1. Nerw błędny i unerwienie trzustki	9
1.1.2. Udział w kontroli wydzielania soku trzustkowego	10
1.1.3. Wagotomia	13
1.2. Ostre zapalenie trzustki (OZT)	15
1.2.1. Etiologia ostrego zapalenia trzustki	16
1.2.1.1. Ostre zapalenie trzustki o etiologii kamiczej	17
1.2.1.2. Ostre zapalenie trzustki o etiologii alkoholowej	18
1.2.2. Patogeneza OZT	19
1.2.2.1. Teoria samostrawienia	19
1.2.2.2. Teoria kolokalizacji	20
1.2.2.3. Teoria lipolityczna	20
1.2.2.4. Udział cytokin w patogenezie OZT	21
1.2.2.5. Udział reaktywnych form tlenu (ROS) w patogenezie OZT	23
1.3. Modele doświadczalne ostrego zapalenia trzustki	24
1.3.1. Model ceruleinowego zapalenia trzustki	24
Rozdział II Materiał i metodyka	26
2.1. Cele pracy	26
2.2. Materiał i metody	26
2.2.1. Modele doświadczalne	27
2.2.1.1. Grupa kontrolna	28
2.2.1.2. Grupa z OZT	28
2.2.1.3. Wagotomia obustronna	29
2.2.1.4. Wagotomia jednostronna (prawostronna lub lewostronna)	30
2.2.1.5. Stymulacja lewego lub prawego nerwu błędnego	31
2.2.2. Oznaczenia	32
2.2.2.1. Masa trzustki i badanie histologiczne tkanki trzustkowej	32
2.2.2.2. Oznaczanie aktywności amylazy oraz lipazy w osoczu.....	33
2.2.2.3 Pomiar produktów utleniania lipidów błonowych; malonyldialdehyd i 4–hydroksynonenal (MDA i 4–HNE) w tkance trzustkowej	34
2.2.2.4. Pomiar trzustkowego przepływu krwi.....	34
Rozdział III Wyniki	36
3.1. Przebieg ostrego zapalenia trzustki	36
3.2. Wpływ wagotomii obustronnej na przebieg ostrego zapalenia trzustki	39
3.2.1. Zmiany morfologiczne w tkance trzustkowej, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi	39
3.2.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu	43
3.2.3. Stężenie MDA + 4–HNE w tkance trzustkowej	45

3.3. Wpływ wagotomii jednostronnej na przebieg ostrego zapalenia trzustki	46
3.3.1. Zmiany morfologiczne w tkance trzustkowej, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi	46
3.3.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu	52
3.3.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej	56
3.4. Wpływ stymulacji lewego nerwu błędnego na przebieg ostrego zapalenia trzustki	58
3.4.1. Zmiany morfologiczne w tkance trzustkowej, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi	58
3.4.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu	62
3.4.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej	64
3.5. Wpływ stymulacji prawego nerwu błędnego na przebieg ostrego zapalenia trzustki	65
3.5.1. Zmiany morfologiczne w tkance trzustkowej, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi	65
3.5.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu	69
3.5.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej	71
Rozdział IV Dyskusja	72
4.1. Ostre zapalenie trzustki	72
4.2. Wagotomia obustronna	73
4.3. Wagotomia jednostronna (prawostronna i lewostronna)	75
4.4. Stymulacja prawego nerwu błędnego	76
4.5. Stymulacja lewego nerwu błędnego	77
Podsumowanie	80
Wnioski	81
Streszczenie	82
Abstrakt	85
Spis rycin	87
Spis tabel	90
Piśmiennictwo	91

Wykaz skrótów

Ach – *Acetylcholine* – acetylocholina

ARDS – *Adult Respiratory Distress Syndrome* – zespół ostrej niewydolności oddechowej

CARS – *Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome* – wielonarządowa odpowiedź przeciwzapalna

CCK – *Cholecystokinin* – cholecystokinina

CHAOS – *Cardiovascular shock, Homeostasis, Apoptosis, Organ dysfunction, Immune suppression*

CRP – *C-reactive protein* – białko C – reaktywne

DVC – *Dorsal Vagal Complex* – jądro grzbietowe pnia mózgu

EC – *enteroendocrine cells* – komórki enterochromatofilne

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – test immunoenzymatyczny

GLP-1 – *Glucagon Like Peptide-1* – glukagonopodobny peptyd-1

GRP – *Gastrin Releasing Peptide* – peptyd uwalniający gastrynę

H&E – *Hematoxylin and Eosin* – hematoksylina i eozyna

IL – 1 – *Interleukin 1* – interleukina 1

IL – 2 – *Interleukin 2* – interleukina 2

IL – 6 – *Interleukin 6* – interleukina 6

IL – 8 – *Interleukin 8* – interleukina 8

IL – 10 – *Interleukin 10* – interleukina 10

i.p. – *intraperitoneal* – dootrzewnowo

IU – *International Unit* – jednostka międzynarodowa

MDA + 4-HNE – *Malonyldialdehyde 4-Hydroxynonenal* – malonyldialdehyd i 4-hydroksynonenal

NO – *nitric oxide* – tlenek azotu

OZT – Ostre Zapalenie Trzustki

PAF – *Platelet Activating Factor* – czynnik aktywujący płytki

PLA₂ – *Phospholipase A₂* – fosfolipaza A₂

PYY – *Pancreatic Peptide Y* – polipeptyd Y

PZT – Przewlekłe Zapalenie Trzustki

ROS – *Reactive Oxygen Species* – aktywne formy tlenu

SEM – *Standard Error of Measurement* – standardowy błąd pomiaru

SIRS – *Systemic Inflammatory Response Syndrome* – zespół uogólnionej odpowiedzi zapalnej

SP – *Substance P* – substancja P

SPINK-1 – *Serine Protease Inhibitor Kazal* – inhibitor proteazy serynowej Kazal typu 1

TNF α – *Tumor Necrosis Factor α* – czynnik martwicy guzów alfa

VIP – *Vasoactive Intestinal Peptide* – wazoaktywny peptyd jelitowy

Rozdział I Wstęp

1.1. Nerw błędny

1.1.1. Nerw błędny i unerwienie trzustki

Nerw błędny jest X nerwem czaszkowym mieszanym (czuciowo–ruchowym), głównym nerwem układu przywspółczulnego. Aż 90% włókien nerwu błędnego utworzone jest z włókien czuciowych aferentnych, a tylko 10% z włókien eferentnych prowadzących sygnały z mózgu do jamy brzusznej i klatki piersiowej. Nerw X zawiera największą liczbę włókien przywspółczulnych [1-3]. Wychodzi on z czaszki przez otwór szyjny i biegnie ku dołowi między żyłą szyjną wewnętrzną i tętnicą wewnętrzną. Przechodząc do klatki piersiowej prawy nerw błędny krzyżuje się z tętnicą podobojczykową prawą, a lewy nerw błędny z powierzchnią łuku aorty. Następnie dochodzi do przełyku, gdzie wcześniej rozgałęzione nerwy łączą się ze sobą tworząc splot przełykowy. Jego przednia część jest utworzona głównie z gałązek nerwu błędnego lewego, a część tylna z gałązek nerwu prawego. W dolnej części przełyku z połączenia gałązek splotu powstają dwa pnie nerwu błędnego: przedni oraz tylny, które przechodzą do jamy brzusznej. W obrębie jamy brzusznej nerw błędny unerwienia trzewia jamy brzusznej z wyjątkiem obwodowego odcinka okrężnicy, pęcherza moczowego i macicy [2,5].

Trzustka zarówno w swej części zewnątrz– jak i wewnątrz–wydzielniczej jest unerwiona obficie przez przywspółczulne włókna nerwu błędnego. Natomiast

unerwienie współczulne gruczołu trzustkowego pochodzi z odcinka piersiowego rdzenia kręgowego i pozazwojowych neuronów – te włókna zaopatrują komórki pęcherzyka oraz miocyty wokół przewodów wyprowadzających i wchodzące w skład ściany naczyń krwionośnych trzustki. Nerw X prowadzi do trzustki włókna przywspółczulne biorące początek w neuronach jądra grzbietowego w pniu mózgu. Położone w miąższu trzustki sploty nerwowe tworzą lokalny „mózg trzustkowy” kontrolujący czynności gruczołu. W skład „mózgu trzustkowego” wchodzi w 85% neurony typu cholinergicznego (uwalniają acetylocholinę), natomiast pozostałe 15% tworzą neurony adrenergiczne (uwalniające: adrenalinę, noradrenalinę), peptydergiczne (uwalniające SP, CCK, enkefaliny), lub nitroergiczne [4-6].

1.1.2. Udział w kontroli wydzielania soku trzustkowego

Wydzielanie soku trzustkowego odbywa się zarówno w fazie wydzielania podstawowego jak i pobudzanego. Wydzielanie podstawowe (zwane też międzytrawiennym) występuje dzięki tonicznej aktywności nerwów błędnych oraz na skutek uwalniania niektórych hormonów jelitowych. Wydzielanie pobudzone dzielimy na trzy fazy: głowową, żołądkową i jelitową. Faza głowowa odpowiada za 20–25%, faza żołądkowa za 10–15%, faza jelitowa za 70% całkowitego wydzielania trzustkowego [7].

W fazie głowowej, pod wpływem zapachu, widoku lub myślenia o pokarmie następuje wydzielanie enzymów z ziarnistości zymogennych komórek pęcherzykowych na drodze pobudzenia wagalnego. Neurony cholinergiczne (poprzez acetylocholinę) oraz peptydergiczne (poprzez GRP = peptyd uwalniający gastrynę) stymulują bezpośrednio wydzielanie enzymów z komórek pęcherzykowych. Aktywność nerwów

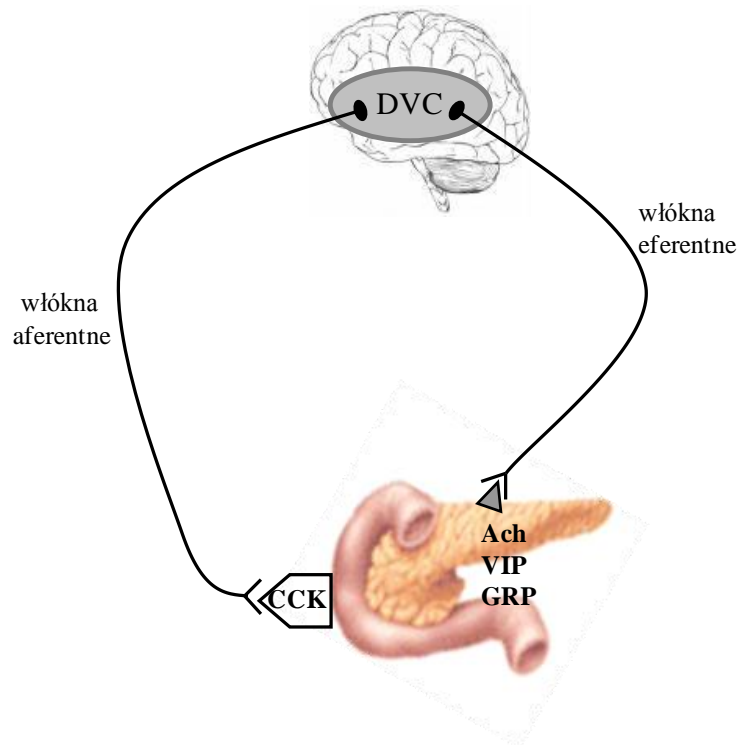
błędnych wpływa również na wydzielanie HCO_3^- przez komórki przewodów wyprowadzających, ale to pobudzenie jest znacznie słabsze niż wpływ układu współczulnego [5].

Wydzielanie w fazie żołądkowej odbywa się poprzez mechanizmy podobne do tych, które działają w fazie głowowej. W wyniku rozciągania żołądka dochodzi do pobudzenia receptorów cholinergiczných co powoduje zwiększenie wydzielania trzustkowego poprzez aktywację odruchów żołądkowo-trzustkowych. Receptory cholinergiczne są zlokalizowane głównie w trzonie oraz dnie żołądka. Ponadto obecność pokarmu pobudza uwalnianie hormonów GRP i gastryny, które zwiększają uwalnianie jonów H^+ z gruczołów żołądkowych [7-11].

Największe znaczenie ma jednak faza jelitowa w której wydzielanie trzustkowe pobudzane jest poprzez:

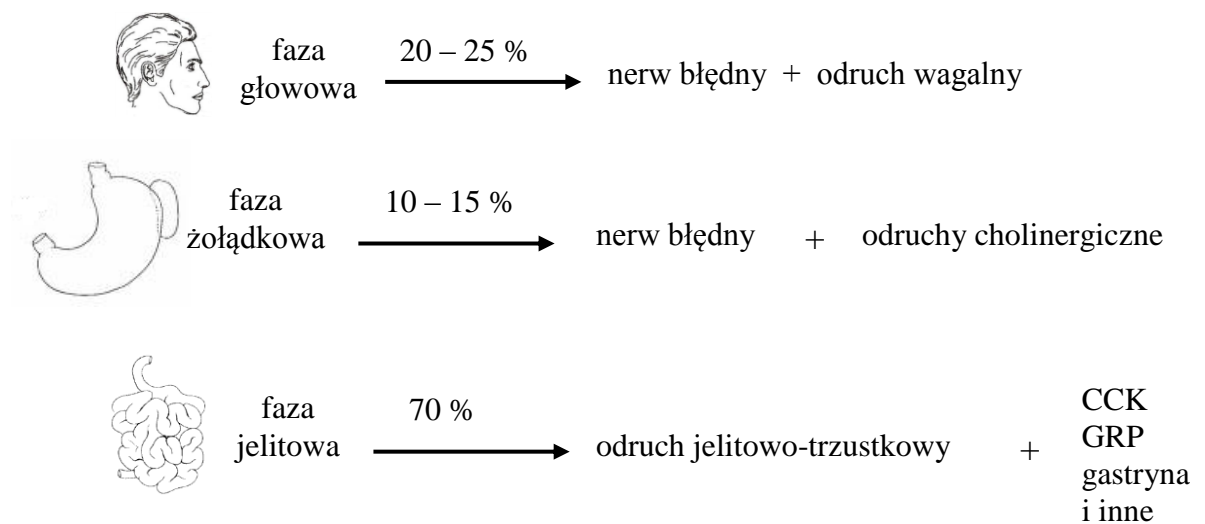
1. Odruch jelitowo-trzustkowy aktywowany przez cholecystokininę (CCK).

Wydzielane pod wpływem pokarmu znajdującego się w dwunastnicy niewielkie ilości tego hormonu przekazują sygnały włókami aferentnymi nerwu błędnego do pnia mózgu gdzie aktywują ośrodki, znajdujące się w jądrze grzbietowym nerwu błędnego (*DVC = dorsal vagal complex*). Kolejno włóknami eferentnymi nerwu X pobudzenie biegnie do trzustki. Uwolniona w trzustce z zakończeń nerwowych acetylocholina pobudza komórki pęcherzykowe trzustki do wydzielania enzymów.



Ryc. 1. Odruch jelitowo – trzustkowy.

2. Odruch jelitowo–trzustkowy, niezależny od CCK, związany jest z mechanicznym rozciąganiem dwunastnicy oraz obecnością treści pokarmowej w dwunastnicy. Dochodzi do aktywacji odruchu jelitowo-trzustkowego przez mechanizm związany z uwalnianiem serotoniny z komórek enterochromatofilnych (EC).
3. Hormony jelitowe uwalniane do światła jelita pobudzają wydzielanie soku trzustkowego. W procesie trawienia napływ znacznej ilości treści pokarmowej do dwunastnicy powoduje uwolnienie CCK w dużych ilościach, jak również pobudza wydzielanie innych hormonów (np. sekretyny, GRP), które stymulują sekrecję trzustkową. Chociaż sama sekretyna nie ma wpływu na wydzielanie enzymów trzustkowych u człowieka, jednak CCK i sekretyna wydzielane jednocześnie silnie pobudzają wydzielanie HCO_3^- i enzymów trzustkowych [5-6,12].



Ryc. 2. Fazy wydzielania trzustkowego.

Hamowanie wydzielania trzustkowego odbywa się poprzez wyłączenie ośrodków w pniu mózgu (DVC). Sygnałem dla zredukowania wydzielania trzustkowego jest obecność resztek pokarmowych w jelicie krętym. Uwalniane są wówczas PYY (polipeptyd YY) i GLP-1 (glukagonopodobny peptyd-1), które hamują czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki [8,13-15; Ryc.2].

1.1.3. Wagotomia

Wagotomia, czyli przecięcie nerwów błędnych, ma na celu zmniejszenie wydzielania kwaśnego soku żołądkowego, zniesienie pobudzenia komórek okładzinowych i zmniejszenie wrażliwości tych komórek na działanie gastryny [12,16-19]. Obecnie znane są cztery rodzaje wagotomii:

1. Wagotomia całkowita (zwana również pniową) – polega na przecięciu nadprzeponowym lub podprzeponowym obu nerwów błędnych, co powoduje

odnerwienie całego żołądka oraz większości trzewi jamy brzusznej. Upośledzona zostaje motoryka i opróżnianie żołądka, dlatego też konieczne jest wykonanie zabiegu modelowania przewodu pokarmowego celem ułatwienia opróżniania żołądka. W tym celu stosuje się dwa zabiegi modelowania przewodu pokarmowego:

- pyloroplastyka (metodą Heineken–Mikulicza) polegającą na nacięciu odźwiernika wzdłuż jego dłuższej osi i wykonaniu zszycia poprzecznego. Metoda ta ułatwia pasaż treści pokarmowej.
 - wagotomia pionowa z następową antrektomią polegająca na usunięciu odźwiernikowej części żołądka oraz zespoleniu powstałego kikuta żołądka z dalszym odcinkiem przewodu pokarmowego.
2. Wagotomia wybiórcza (selektywna) – polega na przecięciu przedniego i tylnego nerwu Latarjeta (gałązki nerwu błędnego które unerwiają żołądek). Dzięki temu zachowana zostaje nienaruszona gałązka wątrobowo pnia przedniego. W przeciwieństwie do wagotomii pionowej nie dochodzi do odnerwienia większości trzewi.
 3. Wagotomia wysoce wybiórcza (wysoce selektywna) – polega na przecięciu odgałęzień nerwów Latarjeta. Prowadzi to do odnerwienia dna i trzonu żołądka, czyli tego obszaru gdzie znajduje się najwięcej gruczołów żołądkowych zawierających komórki okładzinowe, które wydzielają jony H^+ oraz komórki główne wydzielające pepsynogen, który ulega aktywacji do pepsyny w świetle żołądka
 4. Wagotomia proksymalna (rozległa wagotomia proksymalnej części żołądka) – polega na przecięciu włókien nerwu błędnego zaopatrujących trzon i dużą część krzywizny żołądka [20-22].

1.2. Ostre zapalenie trzustki (OZT)

Ostre zapalenia trzustki (OZT), które po raz pierwszy zostało opisane w 1842 roku przez Classena [23], jest procesem zapalnym przebiegającym z zajęciem oprócz trzustki również innych tkanek i narządów [24]. Według obecnie przyjętych kryteriów, ustalonych w 1992 roku w Atlancie, wyróżnia się dwie postaci OZT.

- postać łagodną (obrzękową) występującą u 80–85 % chorych i cechującą się nieznacznym zajęciem innych narządów,
- postać ciężką (martwiczo–krwotoczną), która występuje u 15–20 % chorych, u których dochodzi do uszkodzeń wielonarządowych i miejscowych powikłań infekcyjnych (ropień, martwica). Postać ta cechuje się wysoką śmiertelnością [23-25].

Postać martwiczo–krwotoczna wywołuje zmiany zapalne nie tylko trzustki. Powstający wysięk zapalny, zawierający toksyny i aktywne enzymy trzustkowe, może dostawać się do przestrzeni zaotrzewnowej i niekiedy do jamy otrzewnowej gdzie powoduje podrażnienie tkanek i zwiększa przepuszczalność naczyń włosowatych. W związku z tym następuje ucieczka wody z łożyska naczyniowego oraz wstrząs. Aktywne enzymy powodują uszkodzenie narządów [1].

Powyższa klasyfikacja opiera się na opisie zmian morfologicznych w tkance trzustkowej. Ostatnio Takeda i Petrov zaproponowali nowy system klasyfikacji ostrego zapalenia trzustki opartej na tomografii komputerowej, która ocenia stopień rozwoju pozatrzustkowych cech zapalenia i zakres zmian [26-27].

1.2.1. Etiologia ostrego zapalenia trzustki

Ostre zapalenie trzustki jest wywołane różnymi czynnikami. Do najczęstszych przyczyn należą: kamica żółciowa (również pod postacią mikrokamicy) oraz współistnienie choroby alkoholowej. Te przyczyny leżą u podstawy około 80–90% przypadków OZT. Czynniki wywołujące OZT przedstawia poniższa tabela.

Czynniki etiologiczne	Przykłady
1. Choroby dróg żółciowych	<ul style="list-style-type: none">• Kamica żółciowa• Zapalenie pęcherzyka żółciowego
2. Zmiany organiczne w obrębie przewodów trzustkowych	<ul style="list-style-type: none">• Kamica trzustkowa• Zwężenie pozapalne przewodów trzustkowych• Zwapnienie zwieracza• Skurcz lub obrzęk zwieraczy• Pasożyty• Rak brodawki większej dwunastnicy
3. Zmiany z samej dwunastnicy	<ul style="list-style-type: none">• Niedrożność dwunastnicy• Hipotonia zwieraczy• Zapalenie błony śluzowej
4. Czynniki toksyczne	<ul style="list-style-type: none">• Alkohol• Leki• Toksyny
5. Zakażenia	<ul style="list-style-type: none">• Wirusy• Bakterie
6. Zmiany naczyniowe	<ul style="list-style-type: none">• Miażdżycy tętnic trzustkowych• Zapalenie tętnic trzustkowych• Zmiany zakrzepowe w naczyniach trzustki
7. Czynniki endokrynologiczne	<ul style="list-style-type: none">• Nadczynność przytarczyc• Cukrzyca• Hemochromatoza
8. Czynniki metaboliczne	<ul style="list-style-type: none">• Hiperlipidemia• Mocznicza• Hiperproteinemia
9. Czynniki immunologiczne	
10. Urazy	
11. Czynniki neurogenne	
12. Czynniki pooperacyjne	
13. Czynniki nieznane	

Tabela 1. Czynniki etiologiczne OZT (wg Toouli) [28].

1.2.1.1. Ostre zapalenie trzustki o etiologii kamiczej

Po raz pierwszy zmiany o charakterze martwiczo–krwotocznym trzustki opisał Opie na początku XX wieku. Jest on twórcą tzw. teorii „wspólnego kanału”. W wyniku zatkania kanału żółciowo–trzustkowego przez kamień na brodawce Vatera następuje zarzucanie żółci do przewodu trzustkowego [29]. Teoria ta została częściowo podważona ze względu na fakt, iż ciśnienie jakie panuje w przewodach trzustkowych jest wyższe niż w przewodach żółciowych co sprzyja raczej przechodzeniu soku trzustkowego do przewodów żółciowych [30-31].

W roku 1974 Acosta, a w 1976 Kelly stworzyli niezależnie teorię „ruchomego kamienia”. Według tej teorii w wyniku skurczu pęcherzyka żółciowego drobne kamienie żółciowe przedostają się do przewodu żółciowego wspólnego, przez co może dochodzić do zablokowania odpływu żółci [32-34].

Kolejną teorią dotyczącą przyczyny ostrego zapalenia trzustki jest „hipoteza zarzucania” (regurgitacji) polegająca na dysfunkcji zwieracza Oddiego powodowanej przesuwaniem się kamienia przez brodawkę, co powoduje zarzucanie treści dwunastniczej (z aktywnymi enzymami trzustkowymi) do przewodu trzustkowego [35].

Istnieje jeszcze teoria „zatkania przewodu trzustkowego”. W wyniku zatkania przewodu trzustkowego przez kamień dochodzi do wzrostu ciśnienia w tym przewodzie co prowadzi do uszkodzenia przewodów trzustkowych i przedostawania się soku trzustkowego zawierającego enzymy trawienne do przestrzeni śródmiąższowej [36-38].

1.2.1.2. Ostre zapalenie trzustki o etiologii alkoholowej

Szacuje się, że alkohol stanowi przyczynę 45–75 % przypadków alkoholowego zapalenia trzustki [39]. Dawniej wiązano rozwój przewlekłego zapalenia trzustki (PZT) z etiologią alkoholową, a ostre zapalenie trzustki z żółciową. Obecnie przeważa pogląd, że w przypadku etiologii alkoholowej PZT może być wynikiem powtarzających się ostrych nawrotów choroby prowadzących do zniszczenia mięszu i zastępowania go tkanką łączną [40-41]. Teorie alkoholowego zapalenia trzustki zostały przedstawione w Tabeli nr 2.

Czynniki etiologiczne	Przyczyny
1. Teorie dużego przewodu	<ul style="list-style-type: none">• Refluks żółciowo – trzustkowy• Skurcz zwieracza Oddiego• Refluks dwunastniczo – trzustkowy• Zwiększona przepuszczalność ściany przewodów
2. Teorie małego przewodu	<ul style="list-style-type: none">• Zwiększona lepkość i zawartość protein w soku trzustkowym• Wzrost laktoferyny• Obniżenie litostatyny
3. Uszkodzenie komórki pęcherzykowej	<ul style="list-style-type: none">• Hipoteza toksycznych metabolitów• Teoria wolnych rodników tlenowych• Hiperstymulacja leukocytów• Zwiększona aktywność lizosomalna• Zwiększona aktywność cholinergiczna• Zaburzenia transportu białek w komórce• Teoria martwicy – zwłóknienia

Tabela 2. Teorie patogenetyczne przewlekłego alkoholowego zapalenia trzustki (wg Stevens'a) [37].

1.2.3. Patogeneza ostrego zapalenia trzustki (OZT)

Przyczyny powstawania OZT jak dotąd nie są do końca poznane. OZT jest schorzeniem o nieustalonej patogenezie, które charakteryzują się: silnym bólem z towarzyszącymi nudnościami, wymiotami, gorączką oraz podwyższonym poziomem enzymów trzustkowych we krwi i moczu [28,38].

1.2.3.1. Teoria samostrawienia

Teoria samostrawienia trzustki przez trzustkowe enzymy proteolityczne jako mechanizm powstawania OZT została wysunięta przez *Chiari'ego* w 1896 roku. Przedwczesna aktywacja proteaz w komórce pęcherzykowej, prowadzi do uszkodzenia tkanki trzustkowej i uruchamia kaskadę proenzymów, układ kinin, układ dopełniacza, krzepnięcia, fibrynolizy, powodując szerzenie się procesu zapalnego, zaburzenia krzepnięcia, zaburzenia hemodynamiczne i powikłania wielonarządowe [42]. Czynnikiem inicjującym proces OZT jest przekształcenie trypsynogenu do trypsyny, w którym decydującą rolę odgrywają katepsyny lizosomalne (katepsyna D i B) oraz enzym jelitowy (enterokinaza) [43].

Zdrowa trzustka posiada mechanizmy chroniące przed samostrawieniem. Należą do nich:

1. magazynowanie enzymów trzustkowych w komórce w postaci nieczynnych zymogenów, ich wydzielanie w postaci proenzymów a następnie ich aktywacja dopiero w świetle jelita przy udziale enterokinazy.
2. obecność inhibitorów proteaz np. SPINK-1 (inhibitor proteazy serynowej Kazal typu 1) [43-44].

1.2.3.2. Teoria kolokalizacji

Teoria kolokalizacji OZT opiera się na zaburzeniach śródkomórkowego transportu i wydzielania enzymów trzustkowych [43]. W warunkach fizjologicznych synteza białek trzustkowych, w tym głównie enzymów trawiennych zachodzi w siateczce endoplazmatycznej szorstkiej, skąd transportowane są do aparatu Golgiego, gdzie następuje rozdział na hydrolazy lizosomalne, transportowane dalej do lizosomów i enzymy trawienne, przekształcające się kolejno w ziarnistości zymogenne. W 1984 roku *Steer* przedstawił mechanizm OZT, wywołanego hiperstymulacją ceruleinową lub czynnikami dietetycznymi (etioniną) u myszy i doszedł do wniosku, iż w doświadczalnym OZT segregacja enzymów w obrębie komórki pęcherzykowej jest niekompletna [45-46]. Dochodzi do kolokalizacji ziarnistości zymogennych i hydrolaz lizosomalnych, w tym katepsyny B, a następnie fuzji wakuoli zawierających oba rodzaje enzymów. Katepsyna B powoduje wewnątrzkomórkową aktywację trypsynogenu do trypsyny, co prowadzi do autolizy komórki pęcherzykowej, a w następstwie do uwolnienia enzymów trawiennych do przestrzeni śródmiąższowej. Wydzielanie bazolateralne (do przestrzeni śródmiąższowej) enzymów rozpoczyna proces uszkodzenia i martwicy komórek [42,46-47].

1.2.3.3. Teoria lipolityczna

W powstawaniu OZT uczestniczy lipaza trzustkowa – enzym, syntetyzowany w aktywnej formie, uważany przez niektórych badaczy za czynnik procesu chorobowego toczącego się w trzustce [48]. W przestrzeni śródmiąższowej trzustki

lipaza hydrolizuje trójglicerydy do kwasów tłuszczowych, które uszkodzają błony komórkowe komórek mięsnych trzustki oraz są odpowiedzialne za martwicę naczyń i powstające w nich zakrzepy, w konsekwencji za niedokrwienie gruczołu. Lipaza trzustkowa przy współistniejącym niskim poziomie insuliny oraz wzroście wydzielania adrenaliny, współdziałając z kolipazą powoduje martwicę tłuszczową. Kolipaza ułatwia dostęp lipazy trzustkowej do komórek tłuszczowych, prowadząc do ich martwicy. Oprócz lipazy trzustkowej i kolipazy dużą rolę odgrywa również fosfolipaza A₂ (PLA₂), która pobudzana przez czynnik martwicy guzów α (TNF α) i interleukinę 1 (IL-1) niszczy błony komórkowe umożliwiając wnikanie do nich lipazy trzustkowej. Ponadto fosfolipaza A₂ przedostając się do układu krążenia wywołuje liczne zmiany w np. w płucach prowadząc do rozwoju zespołu ostrej niewydolności oddechowej (*ARDS = Adult Respiratory Distress Syndrome*) i innych powikłań [48-49].

1.2.3.4. Udział cytokin w patogenezie OZT

Ważną rolę w patogenezie OZT odgrywają mechanizmy immunologiczne. W wyniku nadmiernej stymulacji układu immunologicznego pojawia się zespół uogólnionej odpowiedzi zapalnej (*Systemic Inflammatory Response Syndrome = SIRS*). Zespół ten początkowo powstaje jako miejscowa odpowiedź zapalna. W przebiegu SIRS dochodzi do uwolnienia mediatorów procesu zapalnego między innymi interleukin (IL-1, IL-8, IL-6), TNF α oraz czynnika aktywującego płytki (PAF), tlenku azotu (NO), aktywnych form tlenu (ROS). TNF α produkowany przez monocyty i makrofagi, jest jedną z głównych cytokin odpowiedzi zapalnej, która wraz

z cytokinami takimi jak (np. IL-6 i IL-2), może wzmacniać proliferację i różnicowanie limfocytów B i T [50-51].

Aktywacja układu immunologicznego prowadzi do rozwoju powikłań wielonarządowych przełamując odpowiedź przeciwzapalną (*Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome = CARS*). Pojawia się wówczas zwiększona podatność na infekcje bakteryjne i grzybicze, a zwiększona śmiertelność w tej postaci spowodowana jest posocznicą. Głównym markerem przeciwzapalnym jest interleukina 10 (IL-10) wydzielana przez pobudzone limfocyty T (głównie Th2) oraz limfocyty B, monocyty i makrofagi [49].

Zmiany w przebiegu reakcji immunologicznych pozwoliły na sformułowanie hipotezy, że OZT jest chorobą dwufazową, z początkową hiperstymulacją układu immunologicznego, wyrażoną zespołem uogólnionej odpowiedzi zapalnej (*SIRS*), która warunkuje rozwój wczesnych powikłań wielonarządowych przełamując kompensacyjną odpowiedź przeciwzapalną ustroju (*CARS*) [16,51].

Początkowa faza OZT wyrażona hiperstymulacją układu immunologicznego rozwija się na skutek miejscowej odpowiedzi zapalnej w trzustce, charakteryzującej się uszkodzeniem komórek pęcherzykowych oraz wczesną, nadmierną aktywacją naciekających podścielisko łącznotkankowe trzustki neutrofilów, monocytów, makrofagów i limfocytów oraz komórek śródbłonkowych. Uwolnienie z nich mediatorów procesu zapalnego tj. cytokin prozapalnych jak IL-1, IL-6, czynnika TNF α , reaktywnych rodników tlenowych (*Reactive Oxygen Species = ROS*), czynnika aktywującego płytki krwi (*Platelet Activating Factor = PAF*), katepsyn C i G oraz enzymów lizosomalnych powoduje przekształcenie miejscowego odczynu zapalnego w zespół *SIRS*. Wraz z nasileniem procesu zapalnego wzrasta też poziom interleukiny 8 (IL-8) i białka reaktywnego C (*CRP = C-reactive protein*) we krwi. Aktywowany

w wyniku uszkodzenia trzustki zespół CARS, generuje natomiast powstanie przeciwzapalnych interleukin takich jak IL-4 czy IL-10. Jeżeli działanie czynników szkodliwych przekracza możliwości obronne organizmu, dochodzi do rozwoju niedomogi wielonarządowej, która według obecnie przyjętej koncepcji jest częścią zespołu zwanego CHAOS (*Cardiovascular shock, Homeostasis, Apoptosis, Organ dysfunction, immune Suppression*) [52].

Ważną rolę w patogenezie OZT odgrywa czynnik aktywujący płytki (PAF). Uwalniany przez komórki śródbłonka, monocyty, neutrofile, płytki a także komórki pęcherzykowe trzustki pobudza uwalnianie innych prozapalnych cytokin, zwiększa przepuszczalność naczyń włosowatych oraz indukuje infiltrację komórek zapalnych, zwiększa obrzęk i uszkodzenie tkanek [51].

1.2.3.5. Udział reaktywnych form tlenu (ROS) w patogenezie OZT

Próby określenia udziału reaktywnych form tlenu w patogenezie OZT zostały podjęte w latach 80-tych przez *Sanfrey'a*. Podanie enzymów antyoksydacyjnych takich jak dysmutaza ponadtlenkowa i katalaza w przebiegu OZT zmniejsza obrzęk gruczołu trzustkowego, obniża poziom enzymu wskaźnikowego amylazy we krwi oraz zmniejsza zmiany zapalne w obrazie histopatologicznym trzustki [52]. Zastosowanie inhibitora oksydazy ksantynowej, odgrywającej istotną rolę w powstawaniu ROS w badaniach doświadczalnych OZT, zmniejszyło znacząco stopień nasilenia zmian zapalnych, co dowodzi, iż zablokowanie tworzenia ROS wywiera ochronny wpływ na trzustkę w przebiegu jej zapalenia [53-55]. Powstawanie ROS w procesie OZT jest ściśle powiązane z syntezą i wydzielaniem enzymów proteolitycznych i lizosomalnych przez

trzustkę. Aktywacja trypsyny zachodzi pod wpływem stresu oksydacyjnego komórek pęcherzykowych trzustki, natomiast uwalnianie innych proteaz np. chymotrypsyny powoduje zwiększenie wrażliwości tych komórek na działanie ROS oraz pobudza niektóre szlaki metaboliczne w organizmie np. przejście dehydrogenazy ksantynowej w oksydazę ksantynową, biorącej udział w powstawaniu wolnych rodników [53]. Hiperstymulacja organizmu zwierzęcego analogiem CCK – ceruleiną poprzez aktywację receptora CCK komórek pęcherzykowych trzustki powoduje zwiększoną generację ROS w komórce ze szczytem ich wytwarzania 20 minut po użyciu stymulatora [55-56].

1.3. Modele doświadczalne ostrego zapalenia trzustki

Istnieją dwa wiodące modele wywoływania ostrego zapalenia trzustki: inwazyjne i nieinwazyjne. Do nieinwazyjnych należy:

- hormonalna stymulacja (cholecystokinią, ceruleiną, kabramylocholiną),
- immunologiczne (np. podawanie toksyn, surowicy)
- indukowane dietą.

Do inwazyjnych należy podwiązanie przewodów trzustkowych, zamknięta pętla jelitowa, perfuzja przewodów trzustkowych, zamknięcie naczyń krwionośnych tętniczych i żylnych [45,57-59].

1.3.2. Model ceruleinowego zapalenia trzustki

Najbardziej popularnym modelem jest hiperstymulacja trzustki wysokimi stężeniami cholecystokininy (CCK) lub jej syntetycznego analogu – ceruleiny

uzyskiwanego ze skóry żaby *Hyla caerulea*. Pod wpływem pobudzenia przez ceruleinę dochodzi do wzrostu wydzielania enzymów trzustkowych. Ostre zapalenie trzustki wywołane hiperstymulacją ceruleinową odpowiada obrzękowej postaci ostrego zapalenia trzustki u człowieka [36]. Wysokie dawki ceruleiny powodują pobudzenie wydzielania enzymów trzustkowych z zaburzeniem ich segregacji w komórce trzustkowej, co może prowadzić do ich aktywacji i uwalniania do tkanki śródmiąższowej trzustki. Zmiany histopatologiczne w trzustce można zaobserwować już po godzinie od podania ceruleiny. Do charakterystycznych zmian należą: obrzęk śródmiąższowy, nacieczenie komórkami zapalnymi tkanki trzustkowej i wakuolizacja komórek pęcherzykowych trzustki [35,36,48,49,60,61].

Liczne badania doświadczalne oraz publikacje dotyczące obserwacji klinicznych są poświęcone wyjaśnieniu patogenezy OZT. Jednak jak dotąd, nie opublikowano wyników badań związanych z rolą nerwu błędnego w rozwoju tego zapalenia.

Rozdział II Materiał i metodyka

2.1. Cele pracy

Celem pracy jest określenie udziału nerwu błędnego w patogenezie ostrego ceruleinowego zapalenia trzustki u szczura. Zaplanowane badania obejmują:

1. Określenie wpływu wagotomii obustronnej na przebieg ostrego ceruleinowego zapalenia trzustki.
2. Określenie wpływu wagotomii jednostronnej (prawostronnej lub lewostronnej) na przebieg ostrego ceruleinowego zapalenia trzustki.
3. Określenie wpływu stymulacji nerwu błędnego (prawego lub lewego) na przebieg ostrego ceruleinowego zapalenia trzustki.

2.2. Materiał i metody

Badania zostały przeprowadzone na około 300 białych szczurach, płci męskiej rasy Wistar o wadze 200–250 gramów. Zwierzęta karmiono standardowym granulatem zawierającym zestaw niezbędnych składników pokarmowych oraz zapewniono im swobodny dostęp do wody. Przebywały one w klatkach w dobrze wietrzonej pomieszczeniu, w temperaturze pokojowej. Zwierzęta utrzymywano w cyklu 12-godzinnym dzień/noc. Na około 18 godzin przed rozpoczęciem eksperymentu szczury były pozbawiane pokarmu, natomiast dostęp do wody był nieograniczony.

Doświadczenia przeprowadzane były zawsze o tej samej porze dnia, w godzinach porannych. W czasie trwania doświadczeń zwierzęta znajdowały się w indywidualnych klatkach typu Bollman.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach UJ w Krakowie.

2.2.1. Modele doświadczalne

Doświadczenia były przeprowadzone w grupach badawczych I do VI, w których wyodrębniono 2 podgrupy: A i B.

Grupy:

I – Szczury z zachowanymi nerwami błędnymi (I A i I B),

II – Szczury, u których wykonano obustronną wagotomię (II A i II B),

III – Szczury, u których wykonano jednostronną wagotomię poprzez przecięcie prawego nerwu błędnego (III A i III B),

IV – Szczury, u których wykonano jednostronną wagotomię poprzez przecięcie lewego nerwu błędnego (IV A i IV B),

V – Szczury, u których założono mikrostymulator na lewy nerw błędny (V A i V B),

VI – Szczury, u których założono mikrostymulator na prawy nerw błędny (VI A i VI B).

Podgrupy:

A – podgrupa kontrolna – zwierzęta otrzymywały sól fizjologiczną

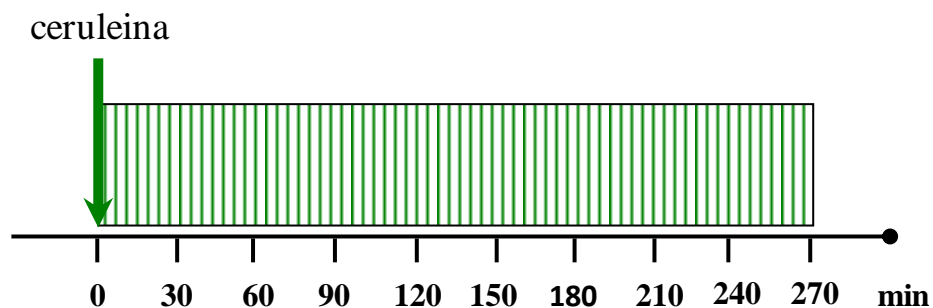
B – podgrupa z OZT – zwierzęta otrzymywały ceruleinę w łącznej dawce 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$
(5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{godzinę}$ x 5 godzin)

2.2.1.1. Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiły szczury, które otrzymywały przez 5 godzin iniekcję podskórną 0,9% NaCl w objętości 0,2 ml/godzinę.

2.2.1.2. Grupa z OZT

Ostre ceruleinowe zapalenie trzustki wywoływano poprzez podawanie ceruleiny podskórnie w dawce 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{godzinę}$ przez 5 godzin. Ceruleina rozpuszczona została w roztworze 0,9% NaCl, bezpośrednio przed eksperymentem i podawana w objętości 0,2 ml/godzinę [Ryc. 3].



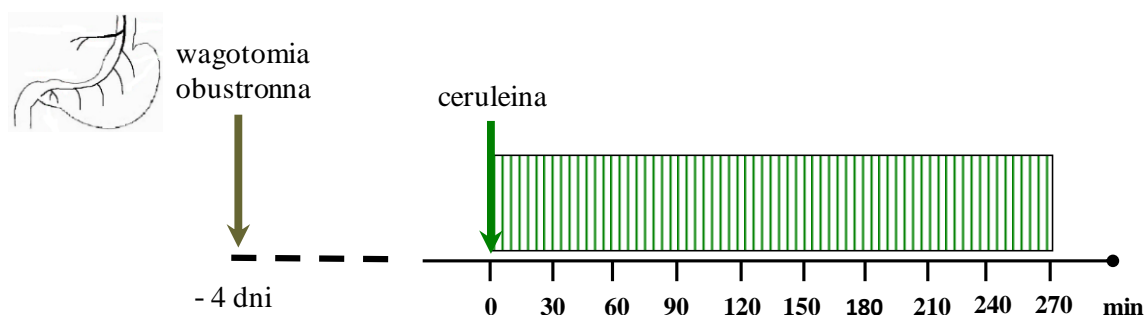
Ryc. 3. Schemat wywołania OZT.

2.2.1.3. Wagotomia obustronna

Szczury pozostające pod narkozą z Vetbutalu (Phentobarbital) w dawce 0,06 g/kg wagi ciała podanej dootrzewnowo (*intraperitoneal = i. p.*), zostały poddane zabiegom chirurgicznym podczas których rozcięto powłoki brzuszne, następnie odsłonięto żołądek i przeprowadzono wagotomię poprzez całkowite przecięcie nerwów błędnych poniżej poziomu przepony. Następnie zoperowane zwierzęta pozostawiono do dnia wykonania eksperymentu w warunkach standardowych.

Po upływie 4 dni od wykonania wagotomii obustronnej grupa doświadczalna szczurów została podzielona na dwie podgrupy: kontrolną oraz zwierzęta z OZT. Szczurom z grupy kontrolnej był podawany podskórnie 0,9% roztwór soli fizjologicznej. Zwierzęta z drugiej podgrupy otrzymywały ceruleinę w dawce 5 µg/kg/godzinę przez 5 godzin. Po upływie 5 godzin szczury usypiano przez podanie Vetbutalu. Po przecięciu powłok brzusznych i odsłonięciu żyły głównej dolnej pobrano krew do probówki z heparyną. Następnie wyizolowano gruczoł trzustkowy celem pobrania fragmentu tkanki do oceny histopatologicznej [Ryc. 4].

Badanie przepływu krwi przez trzustkę zostało przeprowadzone u szczurów po 5 godzinnej infuzji 0,9% soli fizjologicznej (grupa kontrolna) lub ceruleiny.



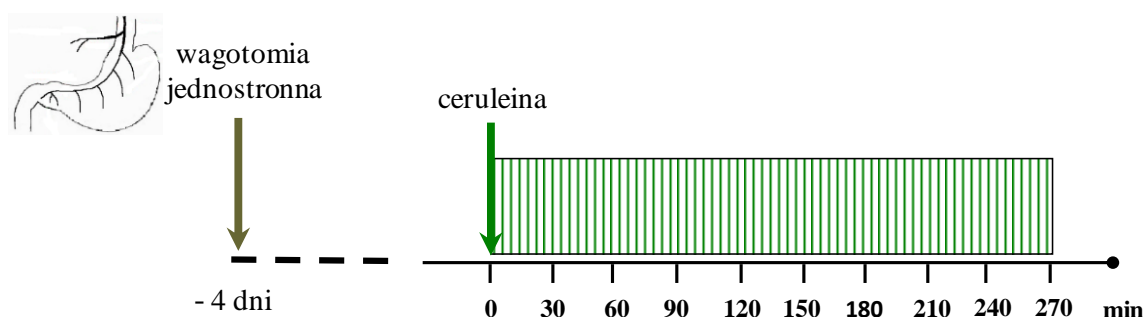
Ryc. 4. Schemat wywołania OZT poprzedzone wagotomią obustronną.

2.2.1.4. Wagotomia jednostronna (pravo- lub lewostronna)

Szczury zostały wprowadzone w narkozę poprzez dootrzewnowe podanie Vetbutalu w dawce 0,06 g/kg wagi ciała. U tych zwierząt zostały rozcięte powłoki brzuszne, następnie odsłonięto żołądek i została przeprowadzona wagotomia prawostronna (lub lewostronna) poprzez przecięcie nerwów błędnych poniżej poziomu przepony po prawej (lub lewej) stronie żołądka. Następnie zoperowane zwierzęta pozostawiono do dnia wykonania eksperymentu w warunkach standardowych.

Po upływie 4 dni od wykonania wagotomii jednostronnej grupa doświadczalna szczurów została podzielona na dwie podgrupy: kontrolną oraz zwierzęta z OZT [Ryc. 5].

Dalsze postępowanie było identyczne jak w przypadku szczurów z wagotomią obustronną.



Ryc. 5. Schemat wywołania OZT poprzedzone wagotomią jednostronną.

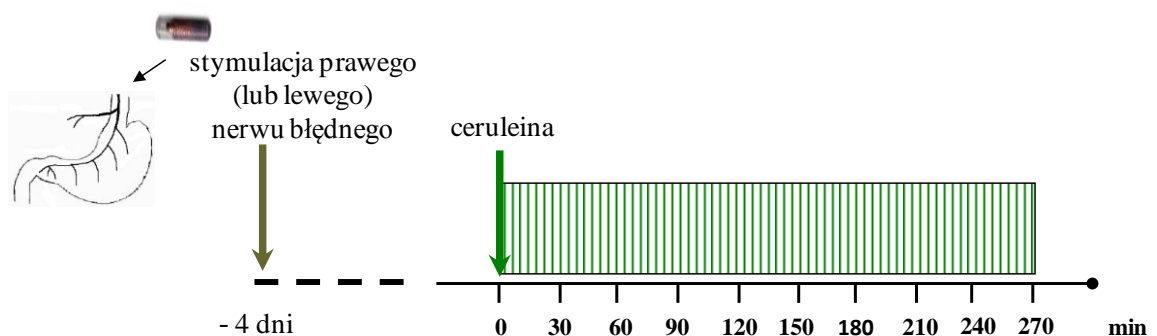
2.2.1.5. Stymulacja prawego lub lewego nerwu błędnego

Do tej części eksperymentów szczury zostały przygotowane przez doświadczonego patofizjologa z Zakładu Patofizjologii UJ CM.

Szczurom pozostającym pod narkozą z Vetbutalu w dawce 0,06 g/kg wagi ciała i.p. rozcięto powłoki brzuszne, następnie odsłonięto żołądek i założono mikrostimulator (mikroczip) na lewy nerw błędny. U innej grupy zwierząt mikrostimulator założono na prawy nerw błędny. Po założeniu mikroczipa podlegał on 24-godzinnemu pobudzeniu przez impulsy o częstotliwości 1 Hz i amplitudzie 100 μ V. Następnie zoperowane zwierzęta pozostawiono do dnia wykonania eksperymentu w warunkach standardowych.

Po upływie 4 dni od założenia mikrostimulatora grupa szczurów została podzielona na dwie podgrupy: kontrolną oraz zwierzęta z OZT [Ryc. 6].

Dalsze postępowanie było identyczne jak w przypadku szczurów z wagotomią obustronną.



Ryc. 6. Schemat wywołania OZT poprzedzone stymulacją pojedynczego nerwu błędnego.

2.2.2. Oznaczenia

W serii doświadczeń w ocenie podlegały następujące parametry:

- ✓ masa trzustki, będąca miarą jej obrzęku
- ✓ aktywność enzymów wskaźnikowych amylazy i lipazy
- ✓ zawartość produktów utleniania fosfolipidów błonowych: malonylodialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE) w tkance trzustkowej
- ✓ trzustkowy przepływ krwi
- ✓ zmiany morfologiczne tkanki trzustkowej

2.2.2.1. Masa trzustki i badanie histopatologiczne tkanki trzustkowej

W celu wykonania badania histologicznego trzustki, po odrzuceniu tkanki tłuszczowej i po wypłukaniu gruczołu w soli fizjologicznej, pobierano około 200 miligramowy wycinek tkanki trzustkowej. Wycinek umieszczano w 10% roztworze formaliny, a następnie wybarwiono go używając standardowej techniki barwienia hematoksyliną i eozyną.

Preparaty histologiczne wykonano w Katedrze Patomorfologii UJ CM, a ich ocena przeprowadzona została przez doświadczonego patomorfologa przy użyciu mikroskopu optycznego typu Axiophot (Jena, Germany) [60-62].

Rozległość uszkodzeń oceniano skali czterostopniowej:

I – obrzęk:

0 – brak obrzęku

1 – obrzęk międzyzrazikowy

2 – obrzęk międzyzrazikowy ze śladami wewnątrzszazikowego

3 – obrzęk międzyzrazikowy i silnie zaznaczony wewnątrzszazikowy

II – naciek leukocytów:

0 – brak nacieku

1 – niewielki naciek okołonaczyniowy

2 – naciek okołonaczyniowy ze śladami rozlanego

3 – silnie zaznaczony naciek całego gruczołu

III – stopień wakuolizacji wyrażony poprzez procent komórek, które uległy temu procesowi:

0 – brak wakuolizacji

1 – mniej niż 25% komórek uległo wakuolizacji

2 – 25 – 50% komórek uległo wakuolizacji

3 – więcej niż 50% komórek uległo wakuolizacji

2.2.2.2. Oznaczanie aktywności amylazy oraz lipazy w osoczu krwi

Krew pobraną do probówek z heparyną (100 µl na 5 ml krwi) odwirowywano przez 10 minut z prędkością 3500 obrotów/minutę (Wirówka Sigma 3K 18). Po oddzieleniu osocza od zawiesiny krwinek, osocze zostało pobrane do probówek typu Eppendorf, a następnie zostało zamrożone do temperatury – 80°C i przechowywane aż do momentu wykonywania oznaczeń.

Aktywność amylazy w osoczu krwi oznaczano przy pomocy zmodyfikowanej metody sacharogennej z użyciem specjalnego odczynnika firmy Alpha Diagnostics do ilościowego oznaczania tego enzymu [63-64].

Aktywność lipazy w osoczu krwi oznaczano metodą suchą, wielowarstwową przy zastosowaniu slajdu Kodak Ektachem DT Slide (LIPA) firmy Eastman Kodak Company [63,65].

2.2.2.3. Pomiar produktów utleniania lipidów błonowych malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE) w tkance trzustkowej

Próbki tkanki trzustkowej ważące około 300 mg były homogenizowane w buforze fosforanowym (20 mM, pH 7.4). Następnie wycinek tkanki trzustkowej wprowadzono do 10 ml probówki i dodawano do niej 10 µg 0,5 M BHT (5,5 g butylowanego hydroksytoluenu + 50 ml acetonitrylu), hamującego procesy oksydacyjne oraz 0,5 ml 50 mM buforu TRIS-HCl o pH = 7.4. Homogenizacji tkanki dokonywano z prędkością 2400 obrotów/minutę przez 15 sekund (Homogenizator Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel IKA® – Labortechnik) i odwirowywano w temperaturze 4°C, z prędkością 13 000 obrotów na minutę przez okres 20 minut (Wirówka Sigma 3K 18). Oddzielony w ten sposób supernatant zamrażano natychmiast w ciekłym azocie. Do czasu wykonania oznaczenia próbki przechowywano w zamrażarce w temperaturze – 80°C. Pomiar aktywności MDA i 4-HNE został dokonany przy użyciu komercyjnego zestawu Bioxytech LPO-586 (Oxis International, Inc., Portland, USA). Absorbancję badano przy użyciu spektrofotometru typu MARCEL s330 przy długości fali 586 nm [66-67].

2.2.2.4. Pomiar trzustkowego przepływu krwi

Przepływ krwi przez trzustkę był mierzony metodą laserową Dopplera przy użyciu przepływomierza Laserflo, model BPM 403A. Szczury wprowadzono w narkozę przy użyciu Vetbutalu. Po wykonaniu laparotomii i uwidocznieniu gruczołu trzustkowego dokonano pomiaru przepływu krwi przez ten gruczoł. Wartość zerowa przepływu była określona przez przyłożenie sondy do neutralnej powierzchni białej bibuły. Powierzchnia emisji promienia laserowego wynosiła 1 mm², a głębokość

penetracji w głąb tkanki 3–6 mm. Wartość przepływu wyrażona w ml/min/100 g tkanki mierzono w pięciu różnych miejscach gruczołu trzustkowego i bezpośrednio odczytywano z monitora przepływomierza. Technika tą mierzono całkowity przepływ krwi przez trzustkę [68].

Pomiar został wykonany przez doświadczonego pracownika Zakładu Fizjologii Doświadczalnej UJ CM.

Rozdział III Wyniki

3.1. Przebieg ostrego zapalenia trzustki wywołanego ceruleiną

Podanie ceruleiny w dawce 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ w ciągu 5 godzin spowodowało rozwój ostrego obrzękowego zapalenia trzustki u wszystkich szczurów. Zaobserwowano niemal dwukrotny wzrost masy trzustki (1650 ± 80 mg) w porównaniu do wartości kontrolnych uzyskanych u zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną (850 ± 80 mg) (Tabela 3).

U szczurów z OZT przepływ krwi przez trzustkę uległ redukcji do około 60%, co stanowiło 130 ± 12 ml/min/100 g trzustki, w porównaniu do wartości 310 ± 10 ml/min/100 g trzustki stwierdzanych u zwierząt kontrolnych (Tabela 3).

Aktywność amylazy w osoczu krwi szczurów z OZT wynosiła 9500 ± 1000 IU/L, a więc zwiększyła się o około 500% w porównaniu z poziomem tego enzymu u szczurów kontrolnych otrzymujących 0,9% NaCl (1700 ± 150 IU/L) (Tabela 3).

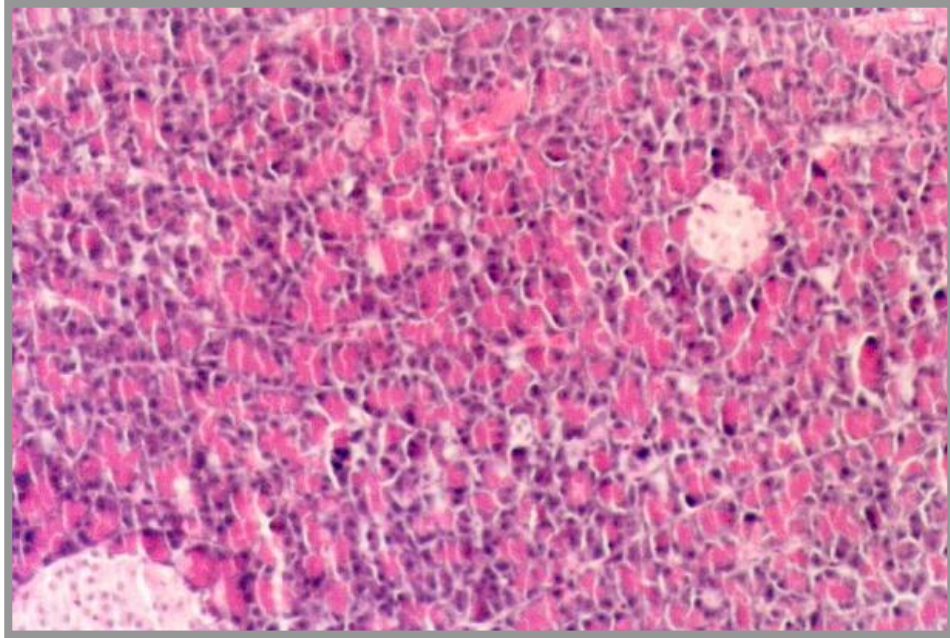
Aktywność lipazy w osoczu krwi szczurów z OZT wynosiła 5225 ± 210 U/L czyli zwiększyła swoją wartość ponad 5000% w porównaniu z osoczym poziomem tego enzymu stwierdzonego u szczurów kontrolnych otrzymujących 0,9% NaCl (100 ± 7 U/L) (Tabela 3).

Produkty peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) mierzone w tkance trzustkowej objętej ostrym procesem zapalnym osiągnęły czterokrotny wzrost (30.6 ± 3 pM/g tkanki trzustkowej) w porównaniu z grupą kontrolną, dla której wartość ta wynosiła 7.5 ± 0.5 pM/g tkanki trzustkowej (Tabela 3).

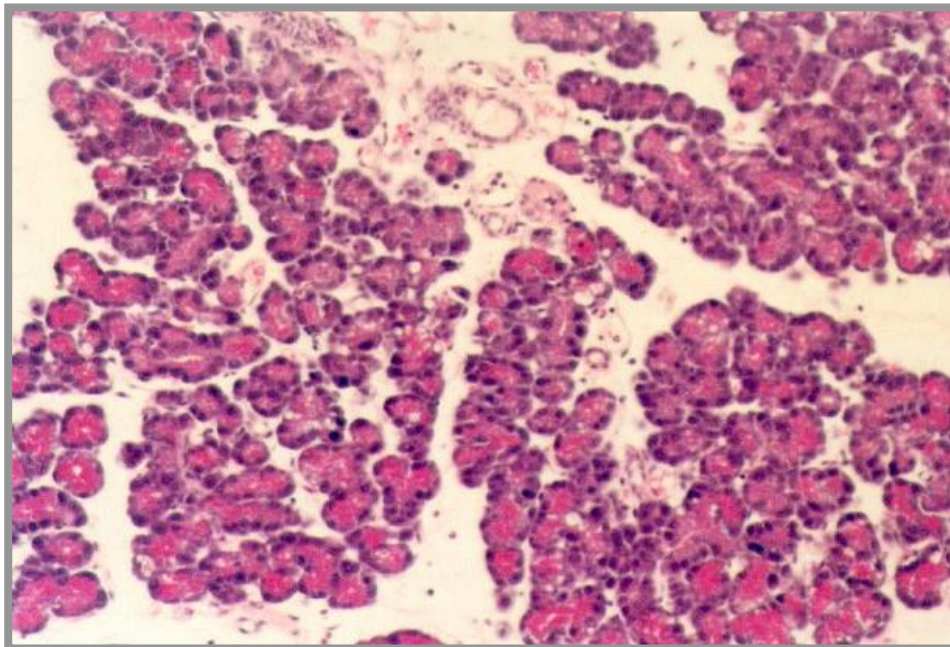
Powyższym zmianom towarzyszył specyficzny dla przebiegu OZT obraz histologiczny cechujący się znacznym obrzękiem śródzrazikowym z okołonaczyniowym naciekiem leukocytów i wakuolizacją komórek (Ryc. 7 i 8).

	KONTROLA	OZT
Masa trzustki (mg/trzustkę)	850 ± 80	1650 ± 80*
Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki)	310 ± 10	130 ± 12*
Osoczkowa aktywność amylazy (IU/L)	1700 ± 150	9500 ± 1000*
Osoczkowa aktywność lipazy (U/L)	100 ± 7	5225 ± 210*
Poziom MDA i 4-HNE w tkance trzustkowej (pM/g tkanki trzustkowej)	7.5 ± 0.5	30.6 ± 3*

Tabela 3. Wpływ podawania ceruleiny (5 µg/kg/h x 5h) na masę trzustki, trzustkowy przepływ krwi, osoczkową aktywność amylazy i lipazy oraz poziom MDA i 4-HNE w tkance trzustkowej. Kontrola – szczury otrzymujące zamiast ceruleiny sól fizjologiczną. Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną przy p<0,05.



Ryc. 7. Mikroskopowy obraz prawidłowej trzustki szczura. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



Ryc. 8. Mikroskopowy obraz trzustki szczura poddanego hiperstymulacji ceruleinowej. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.

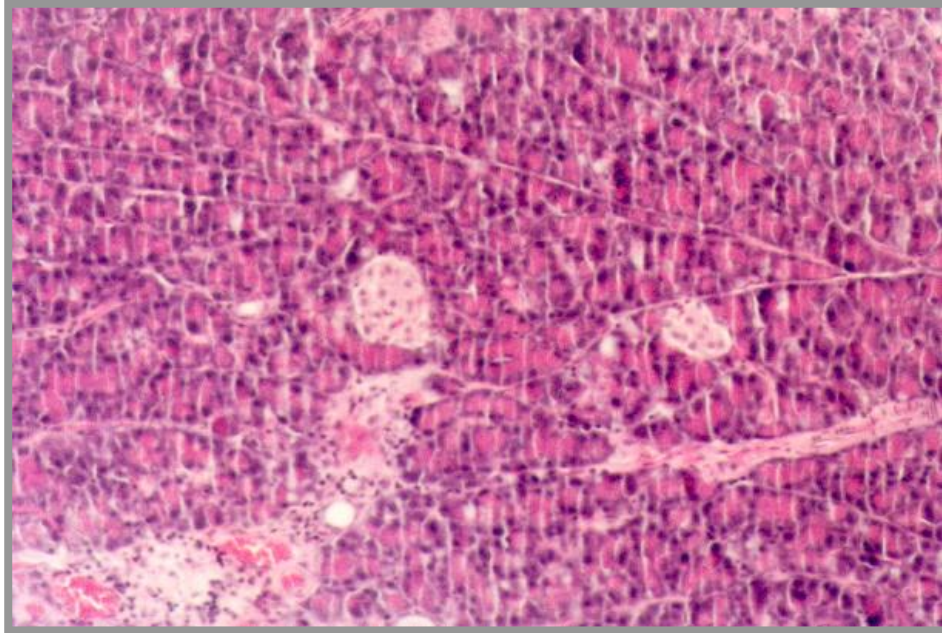
3.2. Wpływ wagotomii obustronnej na przebieg ostrego zapalenia trzustki

3.2.1. Zmiany morfologiczne tkanki trzustkowej, masy trzustki, trzustkowego przepływu krwi

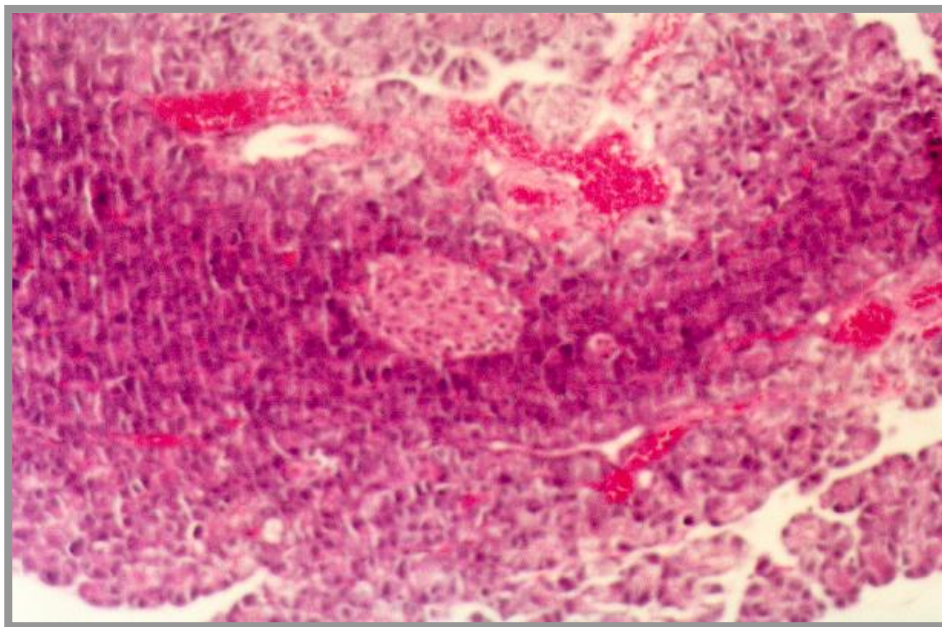
U szczurów z przeprowadzoną wagotomią obustronną bez wywołania ostrego zapalenia trzustki zaobserwowano nieznaczne, statystycznie nieznamienne zmiany w obrębie gruczołu trzustkowego (Tabela 4, Ryc.10). U zwierząt poddanych ostremu zapaleniu trzustki, które poprzedzone zostało wykonaniem obustronnej wagotomii stwierdzono niewielki obrzęk międzyzrazikowy, naciek okołonaczyniowy leukocytów oraz wakuolizację niewielkiego stopnia. Zmiany te były znacznie mniejsze w porównaniu do zmian zapalnych trzustki obserwowanych u szczurów z OZT bez wykonanej wagotomii obustronnej (Tabela 4, Ryc.9,10).

	OBRZEK	NACIEK	WAKUOLE
KONTROLA	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WAGOTOMIA OBUSTRONNA	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
OZT	2.5 ± 0.5*	2.3 ± 0.4*	2.5 ± 0.0*
WAGOTOMIA OBUSTRONNA + OZT	1.0 ± 0.0+	1.0 ± 0.0+	0.8 ± 0.2+

Tabela 4. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5 µg/kg/godzinę przez 5 godzin) u szczurów bez wagotomii oraz u zwierząt z przeprowadzoną wagotomią obustronną. Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamienne statystycznie spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii przy p<0,05.

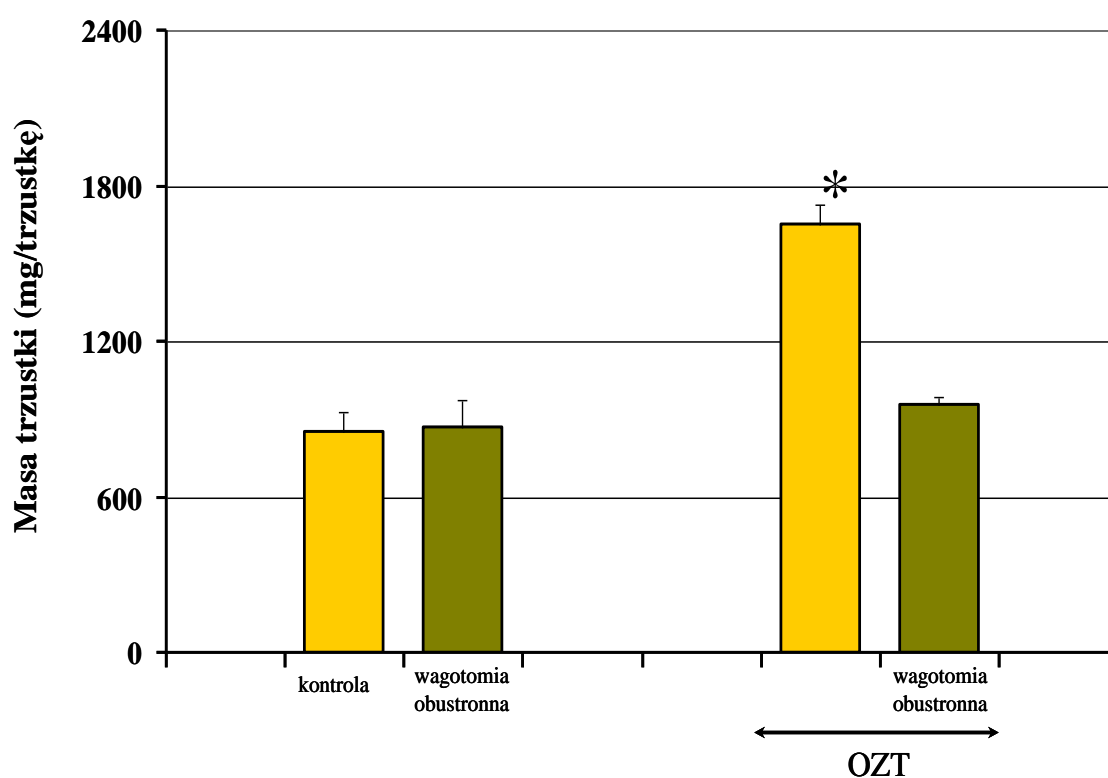


Ryc. 9. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po 4 dniach od przeprowadzonej wagotomii obustronnej. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



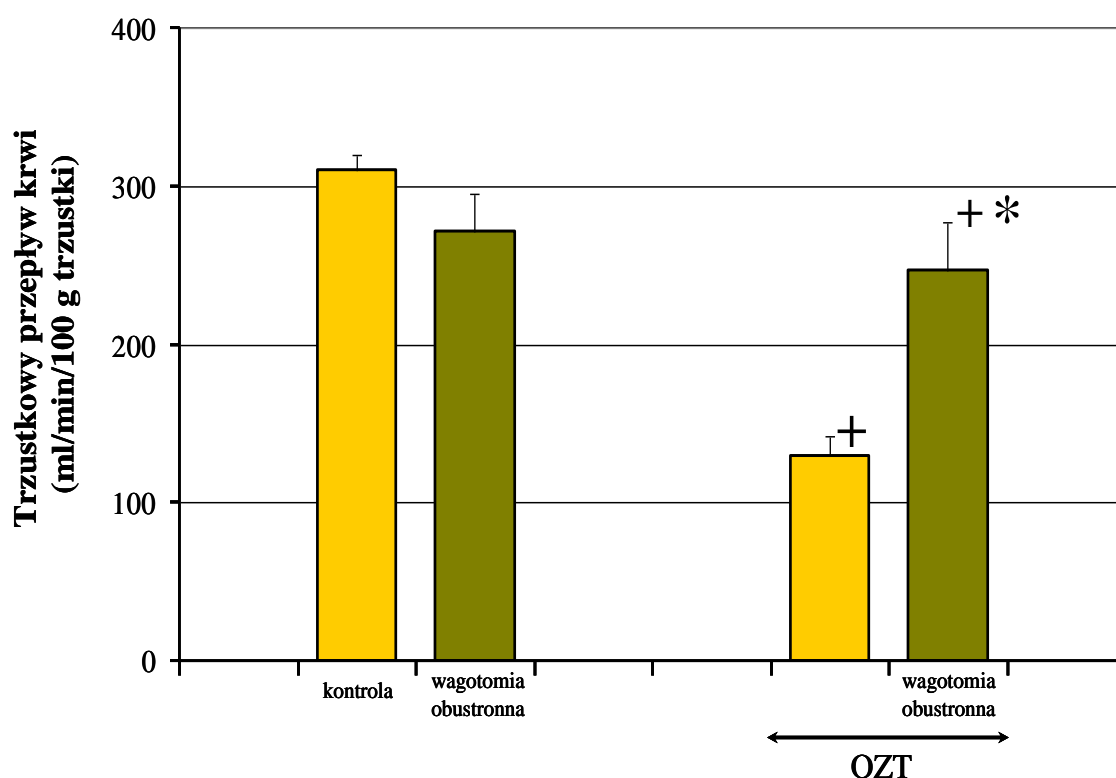
Ryc. 10. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura poddanego wcześniej obustronnej wagotomii. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.

Wykonanie wagotomii obustronnej (bez OZT) nie zmieniło w sposób znamieny statystycznie masy trzustki, która wyniosła 867 ± 108 mg. U szczurów z OZT, poprzedzonym wykonaniem wagotomii obustronnej, stwierdzono znaczące statystycznie zmniejszenie masy trzustki o około 42% (958 ± 28 mg) w porównaniu do zwierząt z OZT bez wykonanej wagotomii obustronnej (Ryc.11).



Ryc. 11. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamieny wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną.

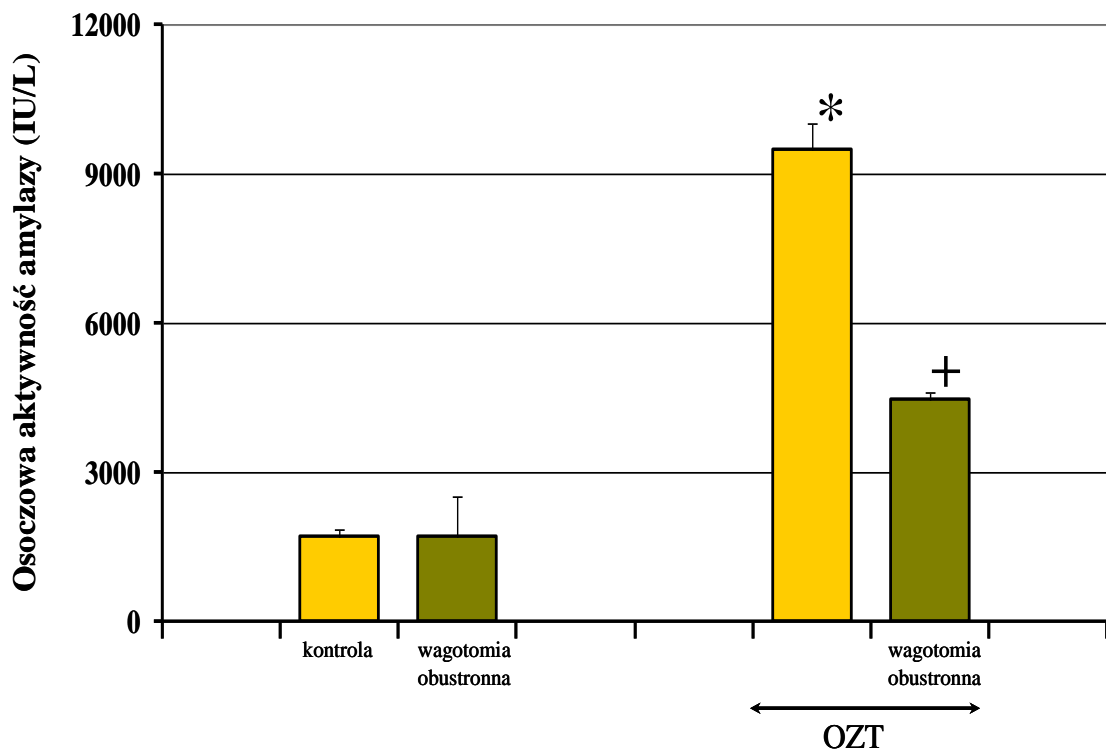
Wagotomia obustronna (bez OZT) nie zmieniła w sposób znaczący trzustkowego przepływu krwi, który wyniósł 271 ± 24.5 ml/min/100 g trzustki. Przepływ krwi przez trzustkę u szczurów z OZT poprzedzonym wykonaniem obustronnej wagotomii był zwiększony o około 50% (247 ± 30.1 ml/min/100 g trzustki) w porównaniu z wartością tego przepływu u zwierząt z OZT bez wykonanej wagotomii obustronnej (130 ± 12 ml/min/100 g trzustki) (Ryc.12).



Ryc.12. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne spadki badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymaną od szczurów z OZT bez wagotomii.

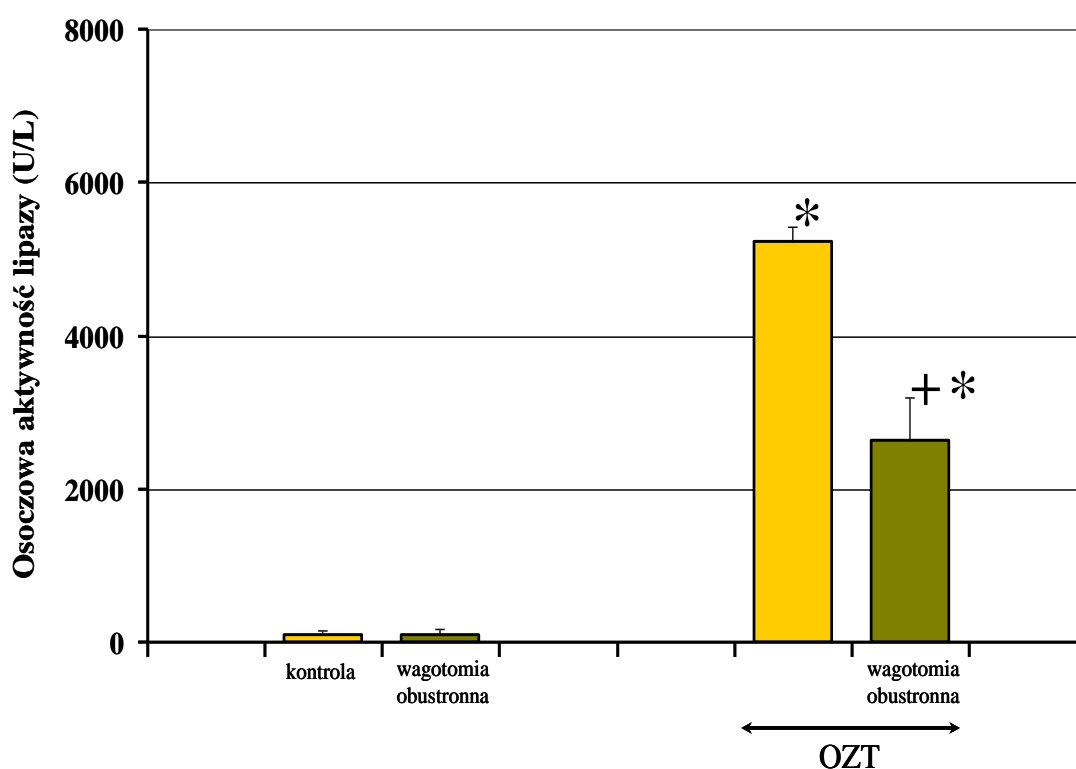
3.2.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu

Wykonanie wagotomii obustronnej (bez OZT) nie zmieniło w sposób znamieny statystycznie aktywności amylazy w osoczu krwi, która wyniosła średnio 1696 ± 809 IU/L. U szczurów z przeprowadzoną wagotomią obustronną, poddanych następnie ostremu zapaleniu trzustki aktywność amylazy w osoczu krwi wynosiła 4449 ± 146 IU/L, a więc uległa redukcji o około 55% w porównaniu z poziomem amylazy u zwierząt z OZT z zachowanymi nerwami błędnymi (Ryc.13).



Ryc. 13. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostрым zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamieny wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamieny statystycznie spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii obustronnej przy $p < 0,05$.

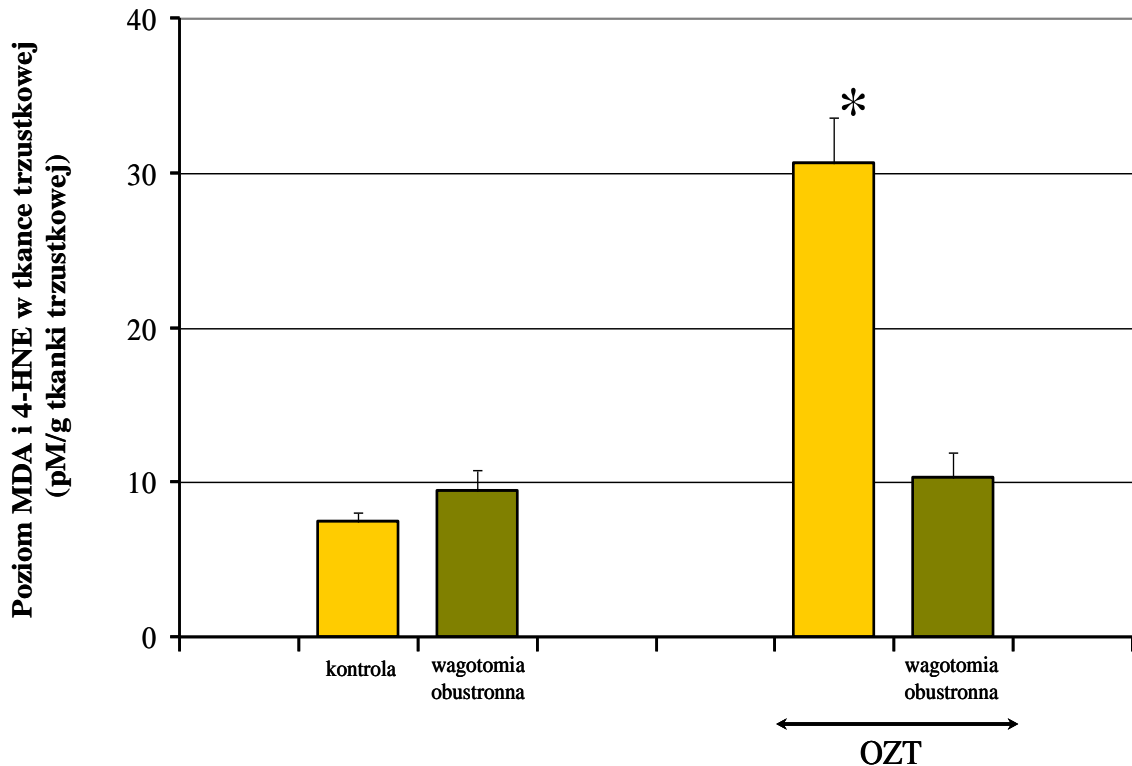
Wykonanie wagotomii obustronnej (bez OZT) nie zmieniło aktywności lipazy w osoczu krwi (100 ± 80 U/L). Aktywność lipazy w osoczu krwi szczurów z wykonaną wagotomią obustronną i wywołanym OZT wynosiła średnio 2640 ± 550 U/L, czyli poziom tego enzymu wskaźnikowego uległ redukcji o ponad 50% w porównaniu z osoczym poziomem tego enzymu u szczurów z OZT i zachowanymi nerwami błędnymi (2640 ± 550 U/L) (Ryc.14).



Ryc. 14. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamiennej spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii przy $p < 0,05$.

3.2.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej

Wykonanie wagotomii obustronnej (bez OZT) nie zmieniło w znaczący sposób aktywności antyoksydacyjnej gruczołu trzustkowego określanej przez pomiar produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) którego wartość wynosiła 9.5 ± 1.3 pM/g tkanki trzustkowej. U szczurów kontrolnych bez wagotomii wartość ta wyniosła 7.5 ± 0.5 pM/g tkanki trzustkowej. Stężenie MDA i 4-HNE mierzone w tkance trzustkowej u szczurów z wykonaną wagotomią poddanych następnie OZT uległo trzykrotnemu zmniejszeniu (10.3 ± 1.6 pM/g) i w porównaniu do wartości otrzymanych od szczurów z OZT bez wagotomii przyjęło wartości zbliżone do poziomu kontrolnego (Ryc.15).



Ryc. 15. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) w trzustce mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną.

3.3. Wpływ wagotomii jednostronnej na przebieg ostrego zapalenia trzustki

3.3.1. Zmiany morfologiczne w tkance trzustkowej, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi

U szczurów z przeprowadzoną wagotomią prawostronną lub lewostronną bez wywołania OZT nie zaobserwowano znaczących statystycznie zmian morfologicznych w obrębie gruczołu trzustkowego.

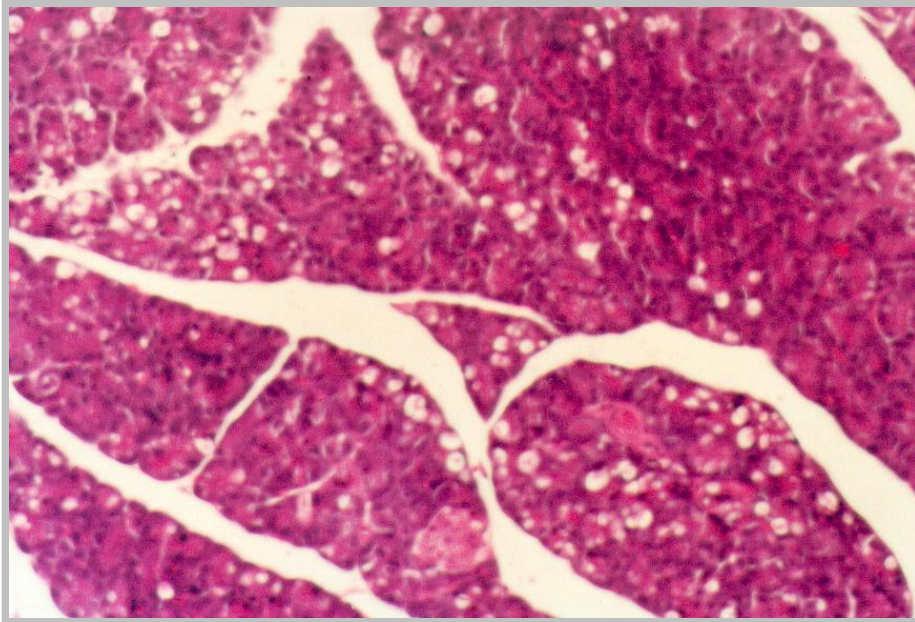
Wykonanie wagotomii prawostronnej poprzedzające wywołanie ostrego zapalenia trzustki spowodowało zmniejszenie obrzęku międzyzrazikowego. Naciek okołonaczyniowy leukocytów nie zmienił się w znamienne statystycznie sposób w porównaniu ze zwierzętami z OZT bez wagotomii prawostronnej (Tabela 5, Ryc.16, 17).

Nie uległa znamiennej statystycznie zmianie wakuolizacja komórek trzustkowych u szczurów z OZT poddanych prawostronnej wagotomii w porównaniu do wakuolizacji obserwowanej u zwierząt z OZT bez wagotomii (Tabela 5, Ryc. 18, 19).

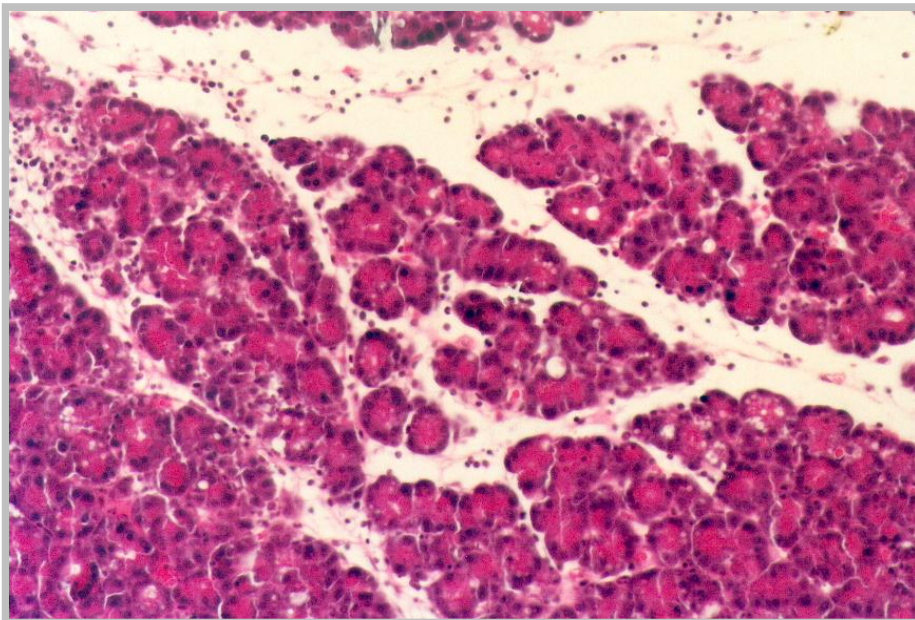
Wywołanie ostrego zapalenia trzustki, poprzedzone wykonaniem wagotomii lewostronnej, spowodowało zmniejszenie obrzęku międzyzrazikowego oraz obrzęku wewnątrzrazikowego i nacieku okołonaczyniowego leukocytów jak również wakuolizacji komórek pęcherzykowych w porównaniu ze zwierzętami z OZT bez wagotomii lewostronnej (Tabela 5, Ryc. 18, 19).

	OBRZĘK	NACIEK	WAKUOLE
KONTROLA	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WAGOTOMIA PRAWOSTRONNA	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.0 ± 0.0
WAGOTOMIA LEWOSTRONNA	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
OZT	2.5 ± 0.5*	2.3 ± 0.4*	2.5 ± 0.0*
WAGOTOMIA PRAWOSTRONNA + OZT	2.0 ± 0.5+	2.1 ± 0.4	2.3 ± 0.4
WAGOTOMIA LEWOSTRONNA + OZT	1.4 ± 0.5+	1.8 ± 0.5+	1.7 ± 0.5+

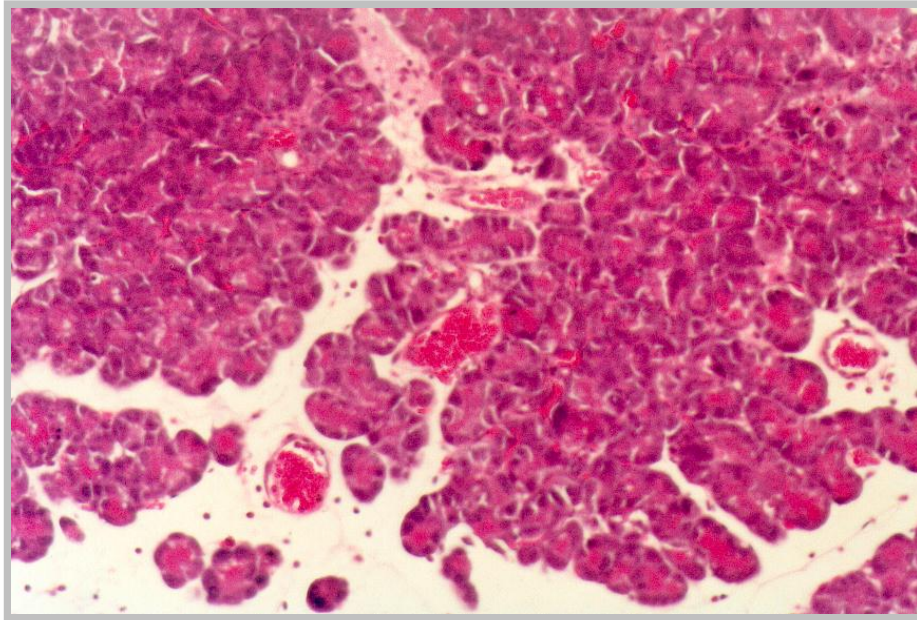
Tabela 5. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5µg/kg/godzinę przez 5 godzin) poprzedzonej wagotomią jednostronną. Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 9 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamienne statystycznie spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii jednostronnej przy p<0,05.



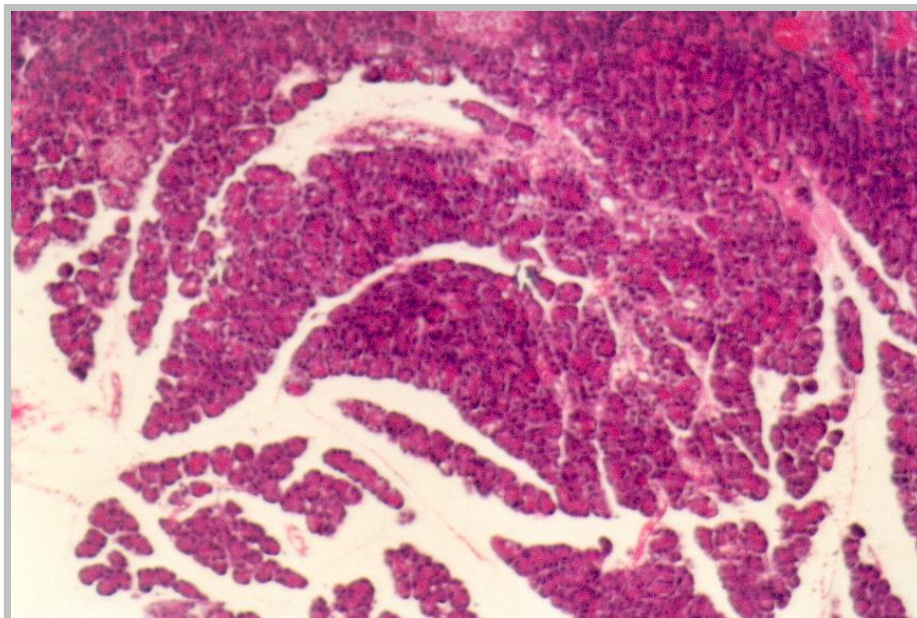
Ryc. 16. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po wagotomii lewostronnej. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



Ryc. 17. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po wcześniejszym wykonaniu wagotomii lewostronnej. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



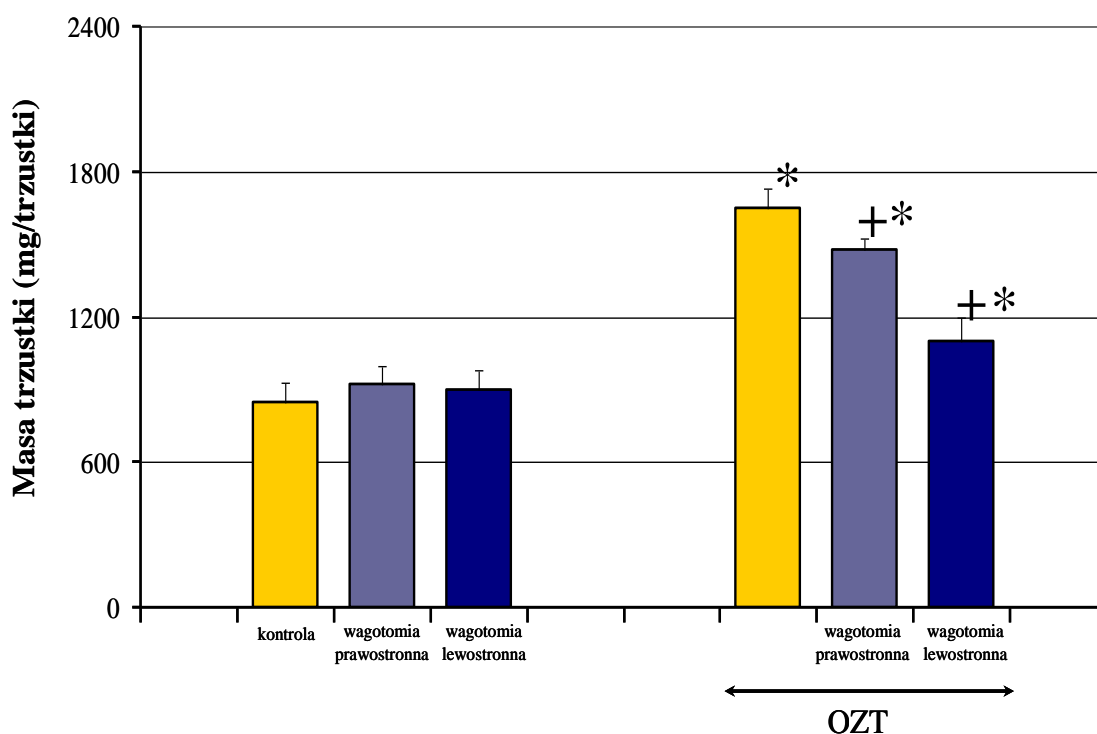
Ryc. 18. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po wagotomii prawostronnej. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



Ryc. 19. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po wcześniejszym wykonaniu wagotomii prawostronnej. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.

U szczurów z wagotomią prawostronną masa trzustki nie odbiegała w sposób znamiennej statystycznie od wartości kontrolnych (kontrola: masa trzustki 850 ± 80 mg, po wagotomii prawostronnej 920 ± 78 mg). Wykonanie wagotomii prawostronnej z następowym wywołaniem OZT spowodowało niewielkie zmniejszenie masy trzustki o około 13% (1475 ± 100 mg) w porównaniu do zwierząt z OZT bez wykonanej wagotomii prawostronnej u których wartość ta wynosiła 1650 ± 80 mg (Ryc.20).

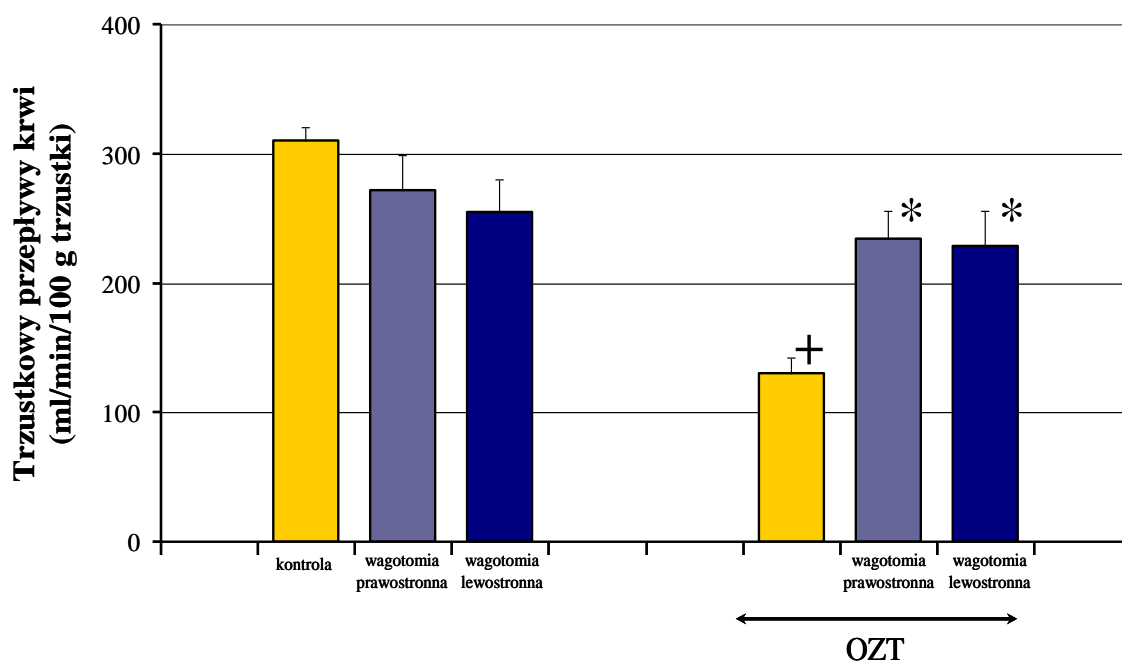
Wykonanie wagotomii lewostronnej (bez OZT) nie zmieniło w sposób znamiennej statystycznie masy trzustki, której waga wyniosła średnio 900 ± 82 mg. Wykonanie wagotomii lewostronnej z następowym OZT spowodowało zmniejszenie masy trzustki o około 30% (1100 ± 100 mg) w porównaniu do zwierząt z OZT bez wykonanej wagotomii prawostronnej u których wartość ta wynosiła 1650 ± 80 mg (Ryc.20).



Ryc. 20. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 9 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamiennej statystycznie spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii jednostronnej przy $p < 0,05$.

Wagotomia prawostronna (bez OZT) spowodowała zmniejszenie trzustkowego przepływu krwi do wartości średnio 272 ± 34.4 ml/min/100 g trzustki w porównaniu z kontrolą (bez wagotonii, bez OZT), która osiągnęła poziom 310 ± 10 ml/min/100 g trzustki. Przepływ krwi przez trzustkę u zwierząt z OZT, poprzedzony wykonaniem wagotonii prawostronnej wzrósł do wartości 234 ± 21.9 ml/min/100 g trzustki w porównaniu z wartością przepływu u zwierząt z OZT bez wykonanej wagotonii prawostronnej, u których wynosił 130 ± 12 ml/min/100 g trzustki (Ryc.21).

Wagotomia lewostronna (bez OZT) spowodowała, w porównaniu do kontroli, zmniejszenie trzustkowego przepływu krwi do wartości 255 ± 35 ml/min/100 g trzustki. Przepływ krwi przez trzustkę u zwierząt z OZT, poprzedzony wykonaniem wagotonii lewostronnej, wzrósł średnio do wartości 229 ± 26.5 ml/min/100 g trzustki w porównaniu z wartością przepływu mierzonego u zwierząt z OZT bez wykonanej wagotonii lewostronnej, u których wartość ta wyniosła 130 ± 12 ml/min/100 g trzustki (Ryc.21).

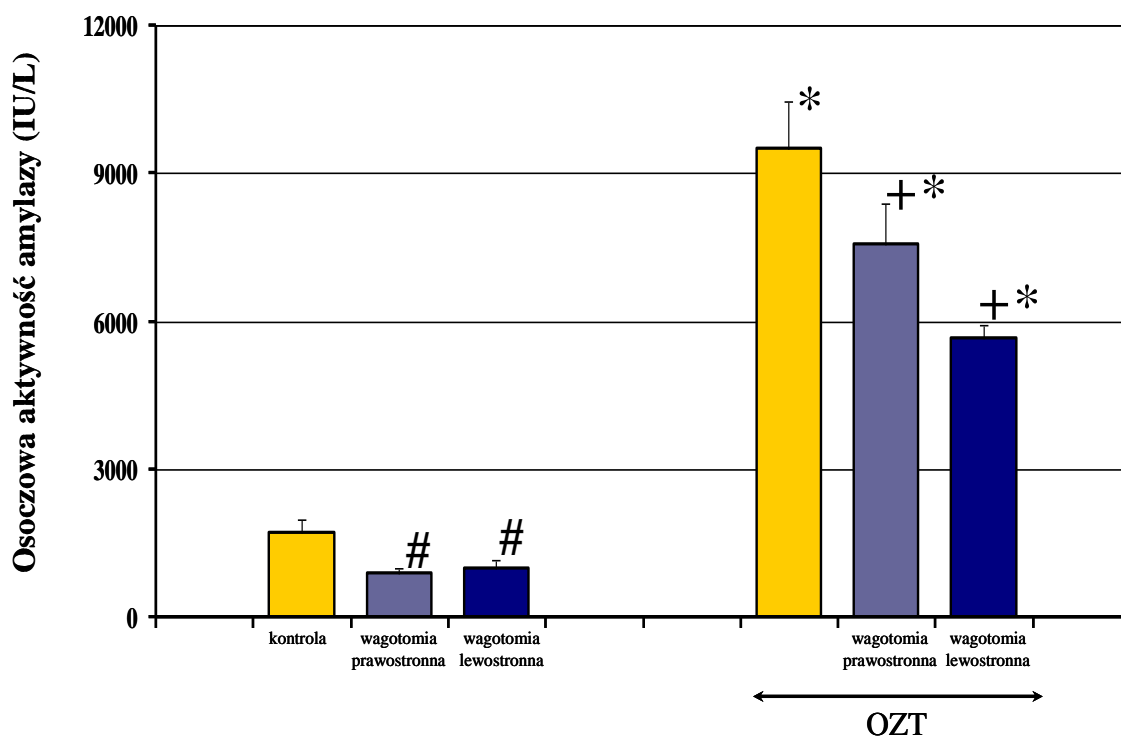


Ryc. 21. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotonii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 9 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne spadki badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Gwiazdka (*) oznacza znamienne statystycznie wzrost w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotonii jednostronnej przy $p < 0,05$.

3.3.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu

Wykonanie wagotomii prawostronnej (bez OZT) spowodowało dwukrotny spadek aktywności amylazy w osoczu krwi do wartości średnio 877 ± 98 IU/L, w porównaniu do aktywności amylazy obserwowanej u zwierząt bez OZT i bez wagotomii (1710 ± 150 IU/L). Wagotomia prawostronna spowodowała znaczące statystycznie zmniejszenie aktywności amylazy u szczurów z OZT do wartości 7568 ± 1200 IU/L, w porównaniu do zwierząt z OZT z zachowanymi prawymi nerwami błędnymi (9500 ± 1000 IU/L) (Ryc.22).

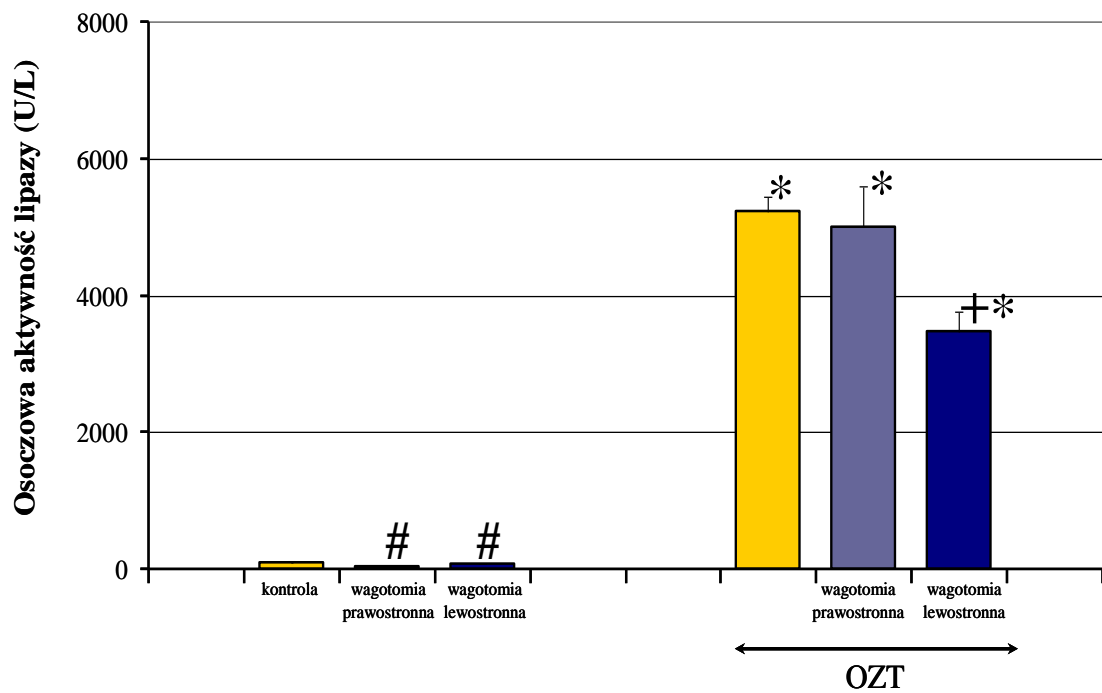
Wykonanie wagotomii lewostronnej (bez OZT) spowodowało zmniejszenie aktywności amylazy w osoczu krwi do wartości średnio 994 ± 150 IU/L, w porównaniu do aktywności amylazy obserwowanej u zwierząt bez OZT i bez wagotomii (1710 ± 150 IU/L). Aktywność amylazy mierzona u szczurów z OZT, poddanych uprzednio wagotomii lewostronnej uległa znacząco statystycznie, zmniejszeniu (5670 ± 250 IU/L), w porównaniu do zwierząt z OZT z zachowanymi prawymi nerwami błędnymi (9500 ± 1000 IU/L) (Ryc.22).



Ryc. 22. Osoczaowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 9 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamiennej spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii jednostronnej przy $p < 0,05$. Podwójny krzyżyk (#) oznacza spadek wartości w porównaniu z kontrolą.

Wykonanie wagotomii prawostronnej spowodowało prawie trzykrotne zmniejszenie podstawowej aktywności lipazy w osoczu krwi (32.75 ± 6.75 U/L) w porównaniu do aktywności lipazy obserwowanej u zwierząt bez wagotomii (100 ± 7 U/L). OZT poprzedzone wagotomią prawostronną, spowodowało jedynie niewielkie, nieznamienne statystycznie, zmniejszenie aktywności lipazy do wartości 5000 ± 600 U/L w porównaniu do zwierząt z OZT z zachowanymi prawymi nerwami błędnymi, u których wartość ta wynosiła 5225 ± 210 U/L (Ryc.23).

Wykonanie wagotomii lewostronnej spowodowało zmniejszenie podstawowej aktywności lipazy w osoczu krwi (do wartości 76 ± 6.75 U/L), w porównaniu do aktywności lipazy obserwowanej u zwierząt bez OZT i bez wagotomii (100 ± 7 U/L). OZT poprzedzone wagotomią lewostronną, spowodowało prawie dwukrotny spadek osoczowej aktywności lipazy (do wartości 3469 ± 300 U/L) w porównaniu z aktywnością lipazy trzustkowej stwierdzonej u zwierząt z OZT z zachowanymi lewymi nerwami błędnymi (5225 ± 210 U/L) (Ryc.23).

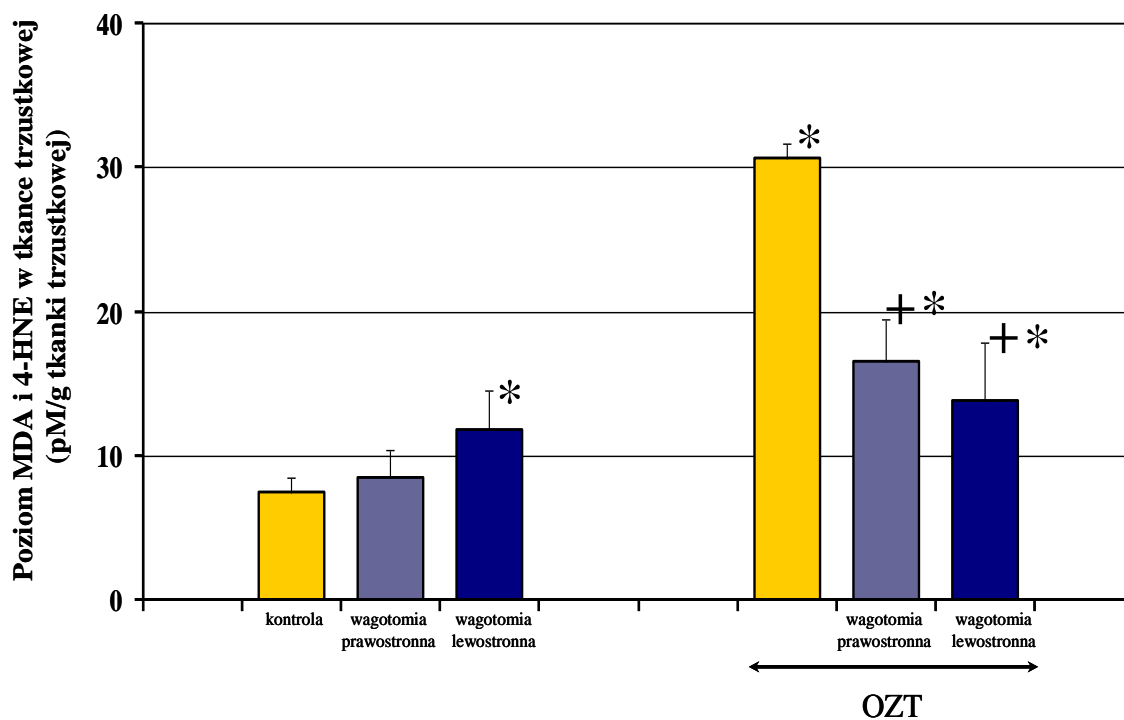


Ryc. 23. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 9 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamienne statystycznie spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii jednostronnej przy $p < 0,05$. Podwójny krzyżyk (#) oznacza spadek wartości w porównaniu z kontrolą.

3.3.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej

Wykonanie wagotomii prawostronnej (bez OZT) spowodowało nieznamienisty wzrost trzustkowej zawartości produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE), (8.48 ± 1.9 pM/g tkanki trzustkowej) w porównaniu z kontrolą (7.5 ± 0.5 pM/g tkanki trzustkowej). U szczurów z OZT, wagotomia prawostronna spowodowała prawie dwukrotne obniżenie poziomu produktów peroksydacji lipidów, do wartości 16.48 ± 3 pM/g tkanki trzustkowej, w porównaniu wartości stwierdzonych u zwierząt z OZT bez wykonanej wagotomii prawostronnej (30.6 ± 3.0 pM/g tkanki trzustkowej) (Ryc.24).

Wykonanie wagotomii lewostronnej (bez OZT) spowodowało wzrost aktywności MDA + 4-HNE w trzustce (11.83 ± 2.65 pM/g tkanki trzustkowej) w porównaniu do zwierząt kontrolnych bez wagotomii. OZT poprzedzone wagotomią lewostronną spowodowało ponad dwukrotne obniżenie poziomu produktów peroksydacji lipidów do wartości 13.84 ± 4 pM/g tkanki trzustkowej, w porównaniu do zwierząt bez wykonanej wagotomii prawostronnej (30.6 ± 3.0 pM/g tkanki trzustkowej) (Ryc.24).



Ryc. 24. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) w tkance trzustkowej mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 9 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Krzyżyk (+) oznacza znamienne statystycznie spadek w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez wagotomii jednostronnej przy $p < 0,05$.

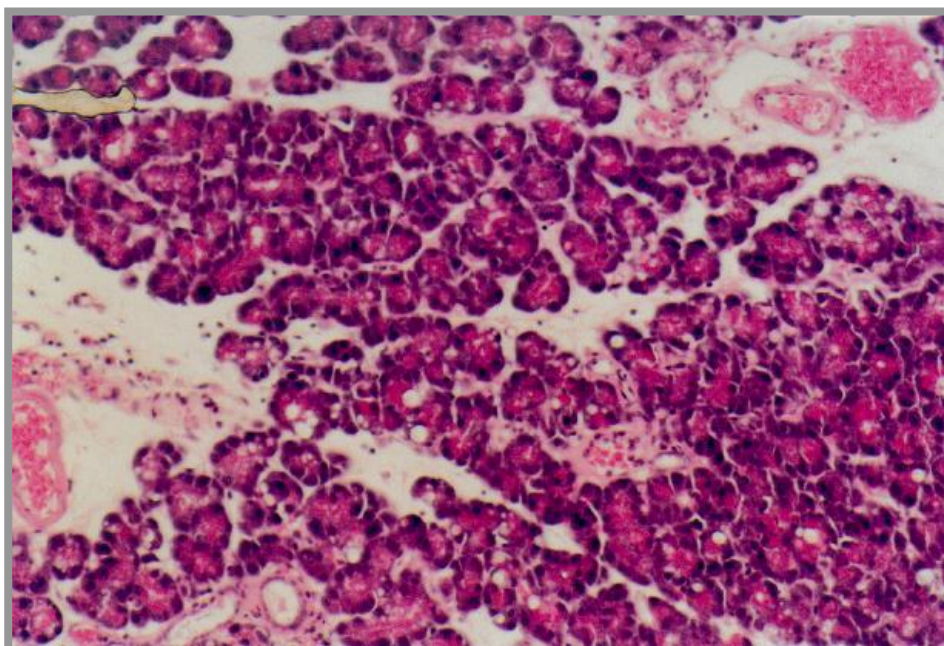
3.4. Wpływ stymulacji lewego nerwu błędnego na ostre zapalenie trzustki

3.4.1. Zmiany morfologiczne w trzustce, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi

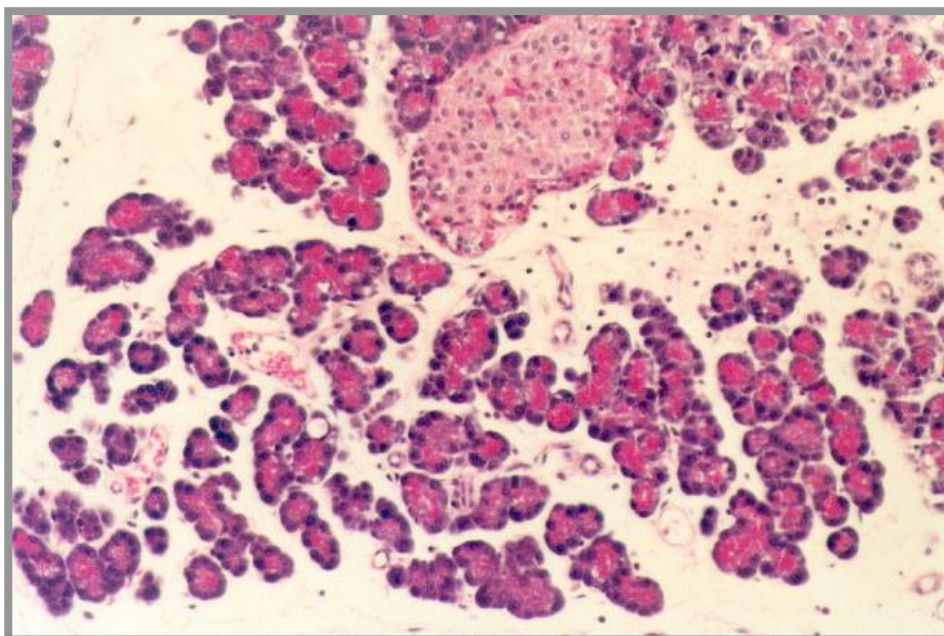
U szczurów poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego (bez OZT) nie zaobserwowano znaczących zmian morfologicznych w obrębie gruczołu trzustkowego. OZT wywołane u szczurów poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego manifestowało się znacznymi zmianami w obrazie histopatologicznym tj. znacznym obrzękiem śródzrazikowym i wewnątrzszazikowym, silniejszym naciekiem leukocytów i dużą wakuolizacją komórek w porównaniu ze zwierzętami z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego (Tabela 6, Ryc.25,26).

	OBRZEK	NACIEK	WAKUOLE
KONTROLA	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
STYMULACJA LEWEGO NERWU BŁĘDNEGO	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
OZT	2.5 ± 0.5*	2.3 ± 0.4*	2.5 ± 0.0*
STYMULACJA LEWEGO NERWU BŁĘDNEGO + OZT	3.0 ± 0.0**	2.8 ± 0.3**	3.0 ± 0.3**

Tabela 6. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5µg/kg/godzinę przez 5 godzin) poprzedzonej stymulacją lewego nerwu błędnego. Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statycznie znamienne wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez wagotomii.

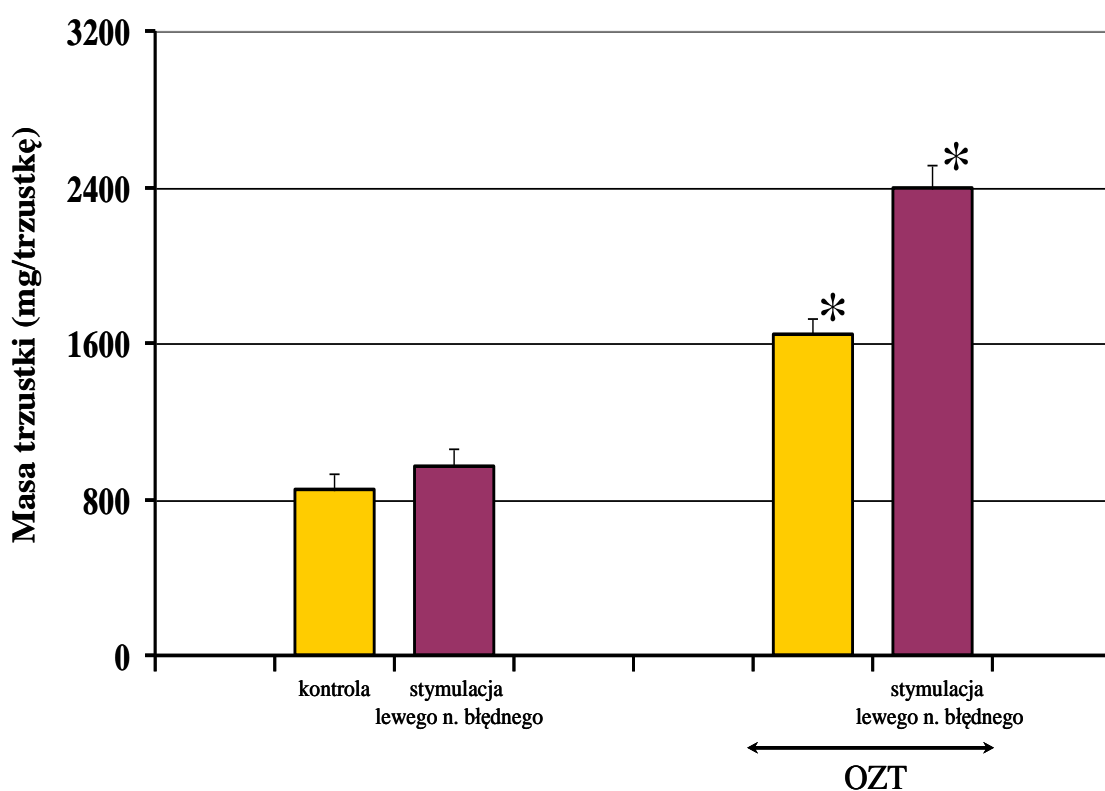


Ryc. 25. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po stymulacji lewego nerwu błędnego. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



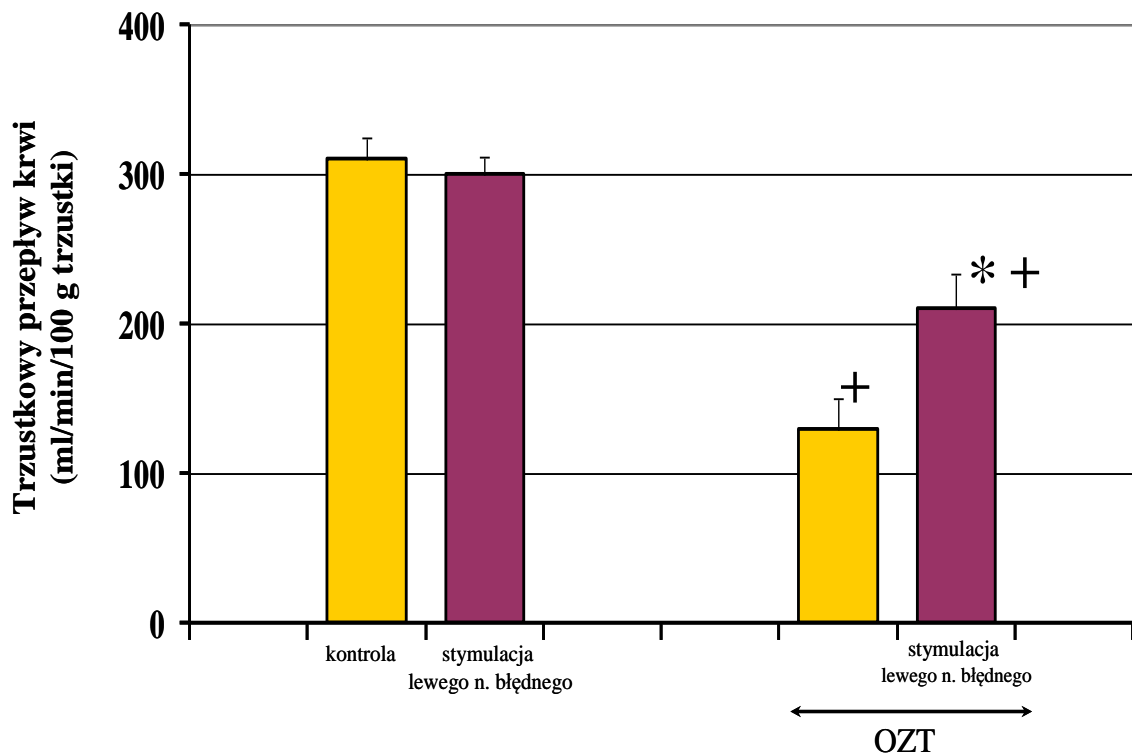
Ryc. 26. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po stymulacji lewego nerwu błędnego. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.

U szczurów poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego (bez OZT) masa trzustki nie uległa zmianie w sposób znamiennej statystycznie (970 ± 95 mg), w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez stymulacji lewego nerwu błędnego (850 ± 80 mg). OZT poprzedzone stymulacją lewego nerwu błędnego, spowodowało znaczące statystycznie zwiększenie się masy trzustki o około 45% (2400 ± 110 mg), w porównaniu do zwierząt z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego (1650 ± 80 mg) (Ryc.27).



Ryc. 27. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną przy $p < 0,05$.

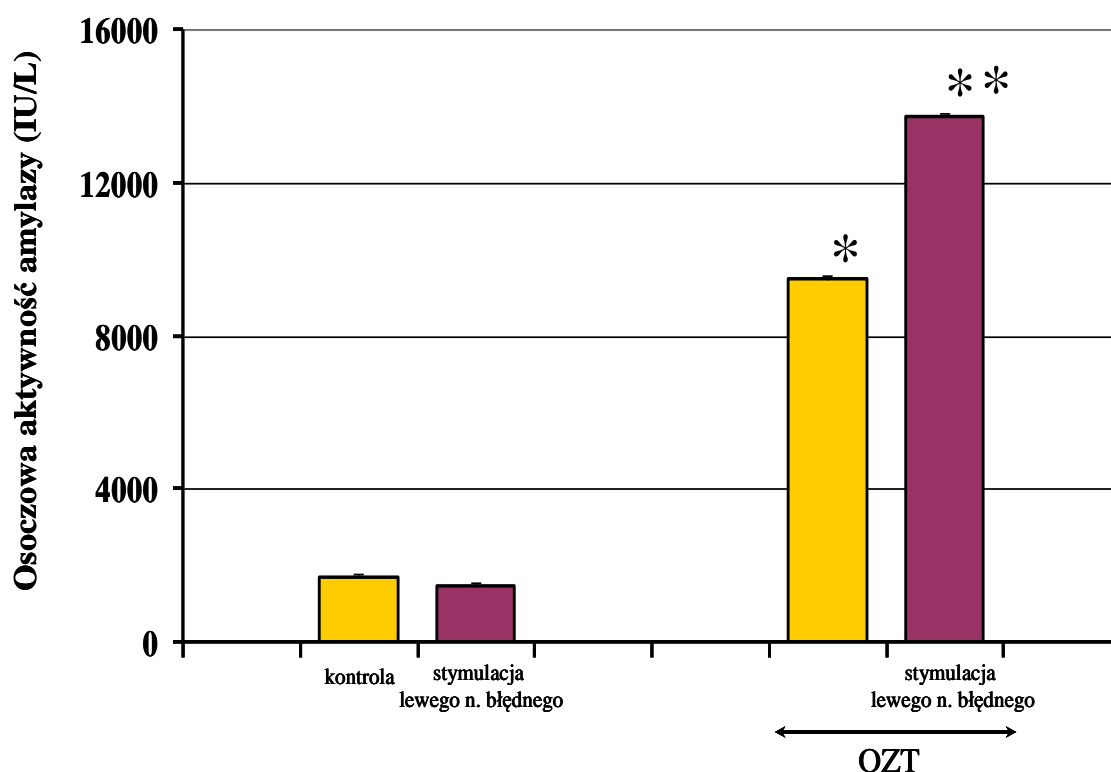
U szczurów poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego (bez OZT) nie zmienił się w sposób znaczący statystycznie trzustkowy przepływ krwi (który wyniósł 300 ± 12 ml/min/100 g trzustki), w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez stymulacji lewego nerwu błędnego (310 ± 10 ml/min/100 g trzustki). Przepływ krwi przez trzustkę u zwierząt z OZT, poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego, wzrósł o 60% (210 ± 23 ml/min/100 g trzustki) w porównaniu z wartością przepływów u zwierząt z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego (130 ± 12 ml/min/100 g trzustki) (Ryc.28).



Ryc. 28. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Krzyżyk (+) oznacza statystycznie znamienne spadki badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrosty w stosunku do wartości otrzymanych od szczurów poddanych OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego przy $p < 0,05$.

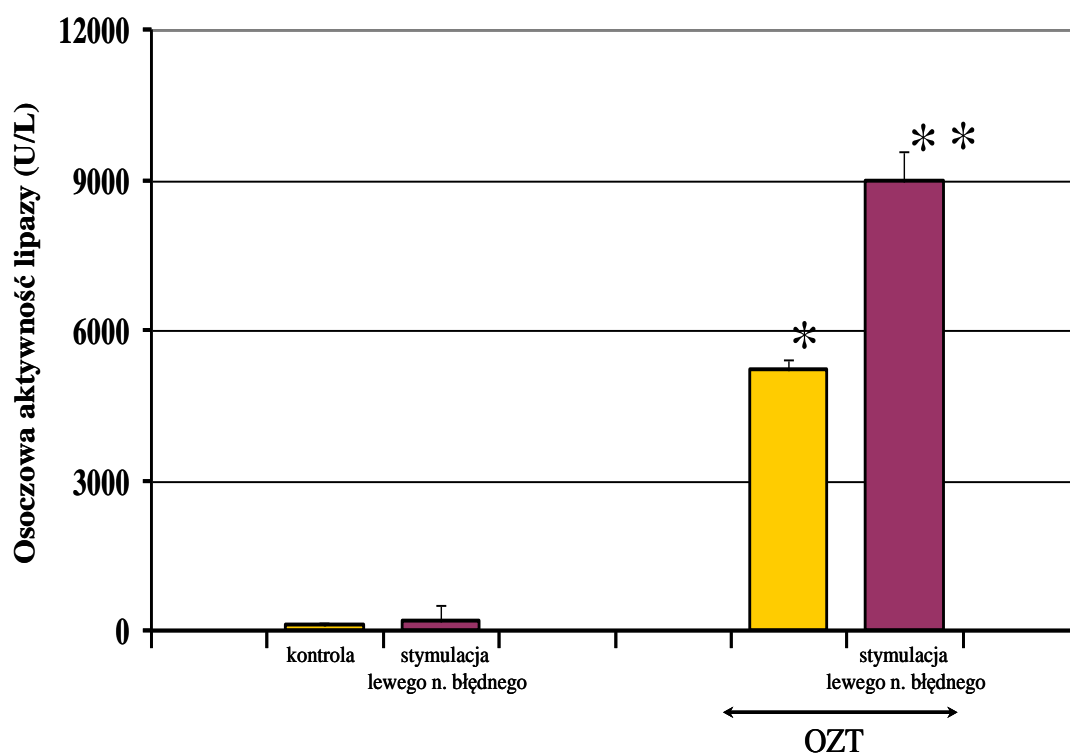
3.4.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu

U szczurów poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego (bez OZT) aktywność amylazy w osoczu krwi wynosiła 1450 ± 95 IU/L i uległa niewielkiemu obniżeniu w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez stymulacji lewego nerwu błędnego (1700 ± 150 IU/L). OZT poprzedzone stymulacją lewego nerwu błędnego spowodowało znaczące statystycznie zwiększenie się aktywności amylazy do wartości 13700 ± 110 IU/L. Wartość ta znacząco statystycznie przewyższała aktywność osoczową amylazy u zwierząt z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego (9500 ± 1000 IU/L) (Ryc.29).



Ryc. 29. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statystycznie znamiennej wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego.

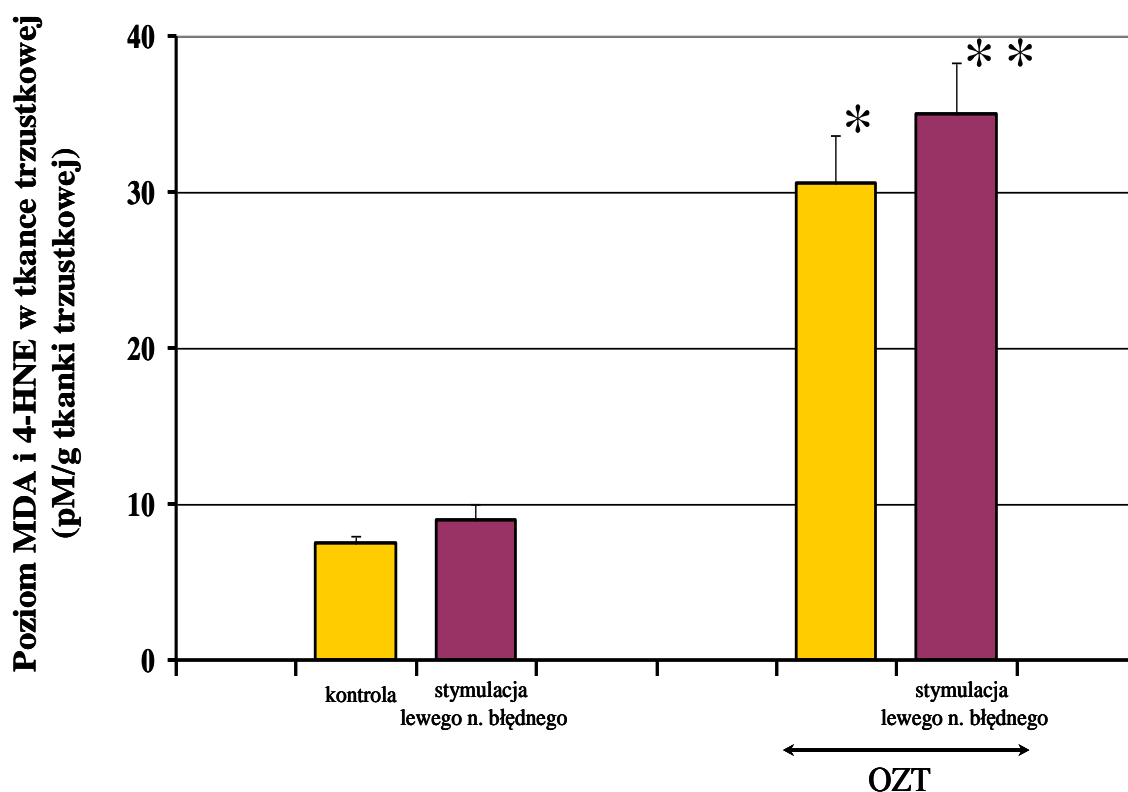
U szczurów poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego (bez OZT) aktywność lipazy w osoczu krwi uległa dwukrotnemu wzrostowi i wyniosła 200 ± 30 U/L trzustki w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez stymulacji lewego nerwu błędnego (100 ± 7 U/L). OZT poprzedzone stymulacją lewego nerwu błędnego spowodowało znaczące statystycznie, prawie dwukrotne, zwiększenie aktywności lipazy w osoczu (9000 ± 550 U/L), w porównaniu do zwierząt z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego u których wartość ta wynosiła 5225 ± 210 U/L (Ryc.30).



Ryc. 30. Osoczkowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statycznie znamiennej wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez stymulacji lewego nerwu błędnego.

3.4.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej

Stymulacja lewego nerwu błędnego (bez OZT) spowodowała niewielki wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w trzustce (9 ± 1 pM/g tkanki trzustkowej). OZT, poprzedzone stymulacją lewego nerwu błędnego, spowodowało wzrost MDA + 4-HNE (do wartości 35.3 ± 3.3 pM/g tkanki trzustkowej), w porównaniu do zwierząt z OZT bez wykonanej stymulacji lewego nerwu błędnego (30.6 ± 3.0 pM/g tkanki trzustkowej) (Ryc.31).



Ryc. 31. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statycznie znamiennej wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez bez stymulacji lewego nerwu błędnego.

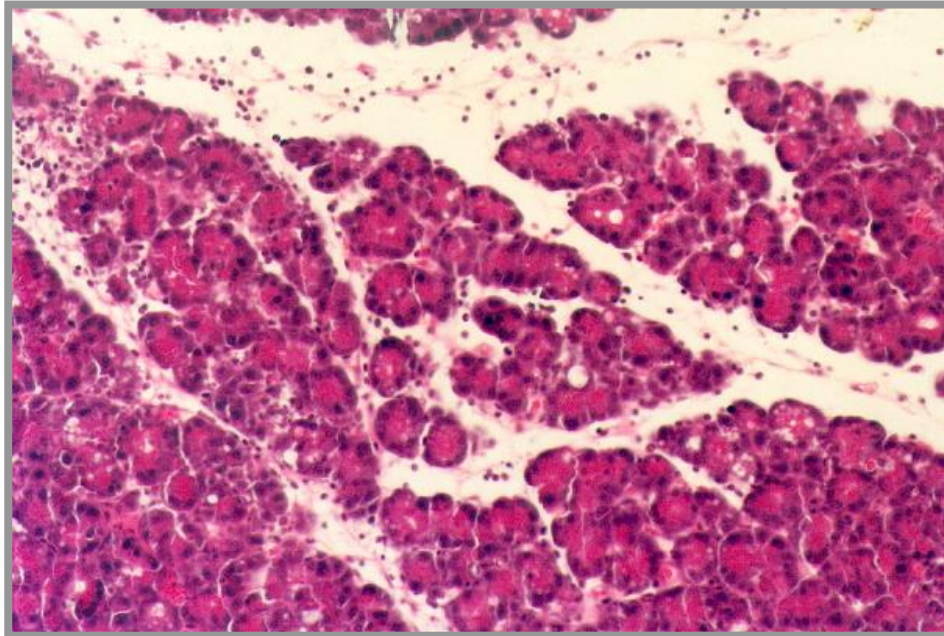
3.5. Wpływ stymulacji prawego nerwu błędnego na ostre zapalenie trzustki

3.5.1. Zmiany morfologiczne w trzustce, masa trzustki, trzustkowy przepływ krwi

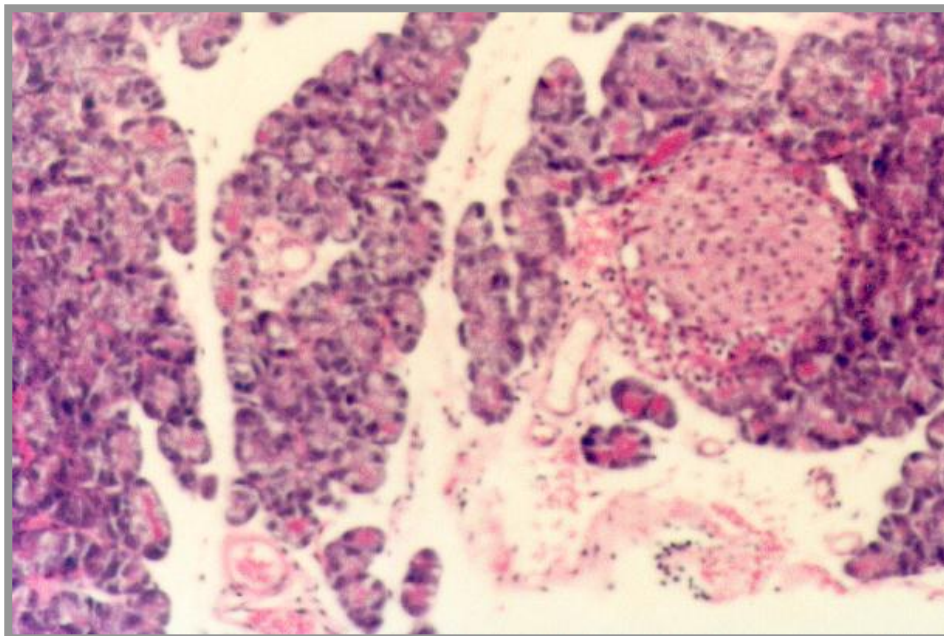
U szczurów poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego bez OZT nie zaobserwowano znaczących zmian morfologicznych w obrębie gruczołu trzustkowego. Wywołanie OZT poprzedzone stymulacją prawego nerwu błędnego spowodowało nieznaczne zaostrzenie zmian zapalnych w obrazie histopatologicznym tj. niewielki wzrost obrzęku śródzrądkowego w porównaniu ze zwierzętami z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego (Tabela 7, Ryc.32,33).

	OBRZĘK	NACIEK	WAKUOLE
KONTROLA	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
STYMULACJA PRAWEGO NERWU BŁĘDNEGO	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
OZT	2.5 ± 0.5*	2.3 ± 0.4*	2.5 ± 0.0*
STYMULACJA PRAWEGO NERWU BŁĘDNEGO + OZT	2.8 ± 0.4	2.4 ± 0.4	2.7 ± 0.7

Tabela 7. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5µg/kg/godzinę przez 5 godzin) poprzedzonego stymulacją prawego nerwu błędnego. Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamiennej wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną.

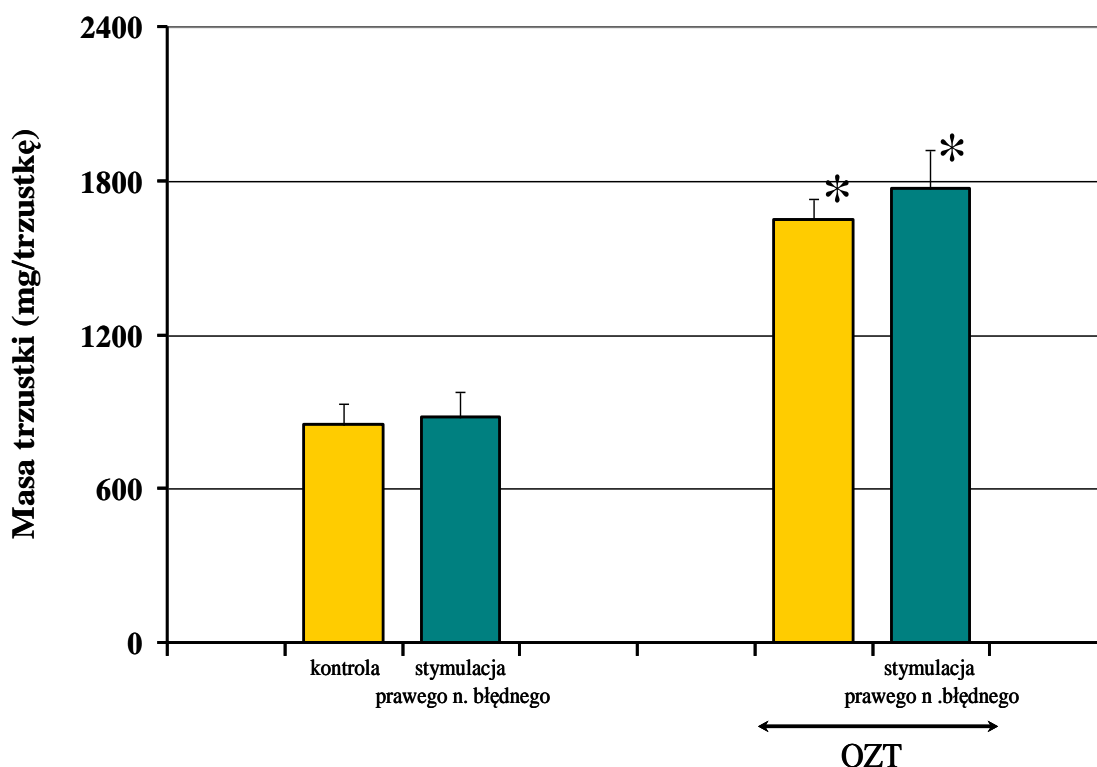


Ryc. 32. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po stymulacji prawego nerwu błędnego. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.



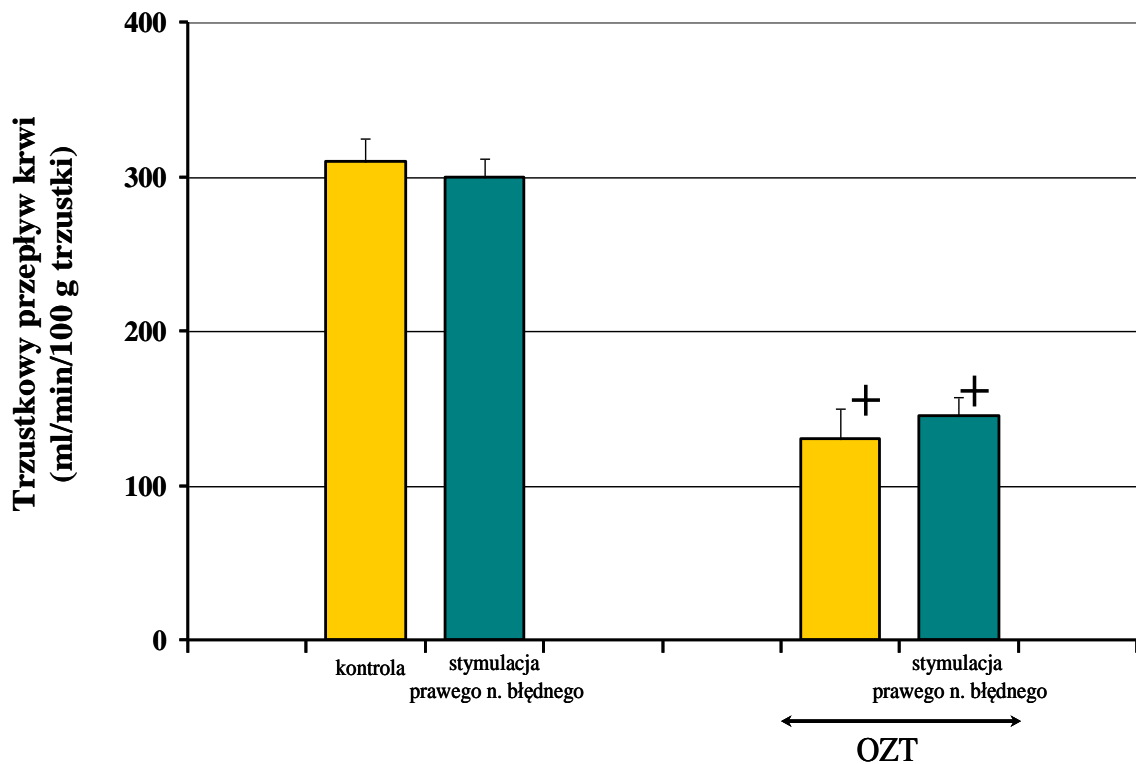
Ryc. 33. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po stymulacji prawego nerwu błędnego. Technika barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E), powiększenie 400x.

U szczurów poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego (bez OZT) masa trzustki nie zmieniła się w sposób znamieny statystycznie (880 ± 95 mg), w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez wykonanej stymulacji prawego nerwu błędnego (850 ± 80 mg). Wywołanie OZT, poprzedzone stymulacją prawego nerwu błędnego, spowodowało niewielkie zwiększenie masy trzustki (1770 ± 150 mg), w porównaniu do zwierząt z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego (1650 ± 80 mg) (Ryc.34).



Ryc. 34. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamieny wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną.

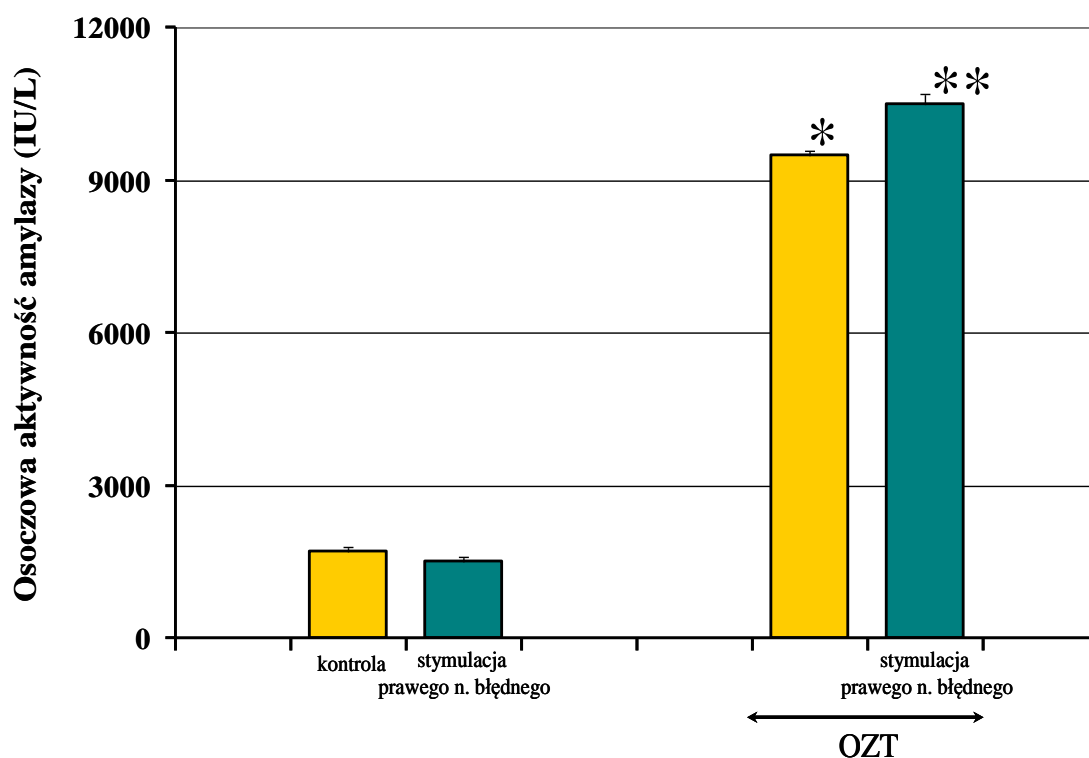
U szczurów poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego (bez OZT) nie zmienił się w sposób znaczący trzustkowy przepływ krwi, który wyniósł 300 ± 12 ml/min/100 g trzustki, w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez stymulacji prawego nerwu błędnego (310 ± 10 ml/min/100 g trzustki). Przepływ krwi przez trzustkę u zwierząt z OZT, u których stymulowano prawy nerw błędny, wyniósł 145 ± 12 ml/min/100 g trzustki w podczas gdy wartość przepływów mierzonych u zwierząt z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego osiągnęła 130 ± 12 ml/min/100 g (Ryc.35).



Ryc. 35. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Krzyżyk (+) oznacza znamienne statystycznie spadki w stosunku do wartości kontrolnych.

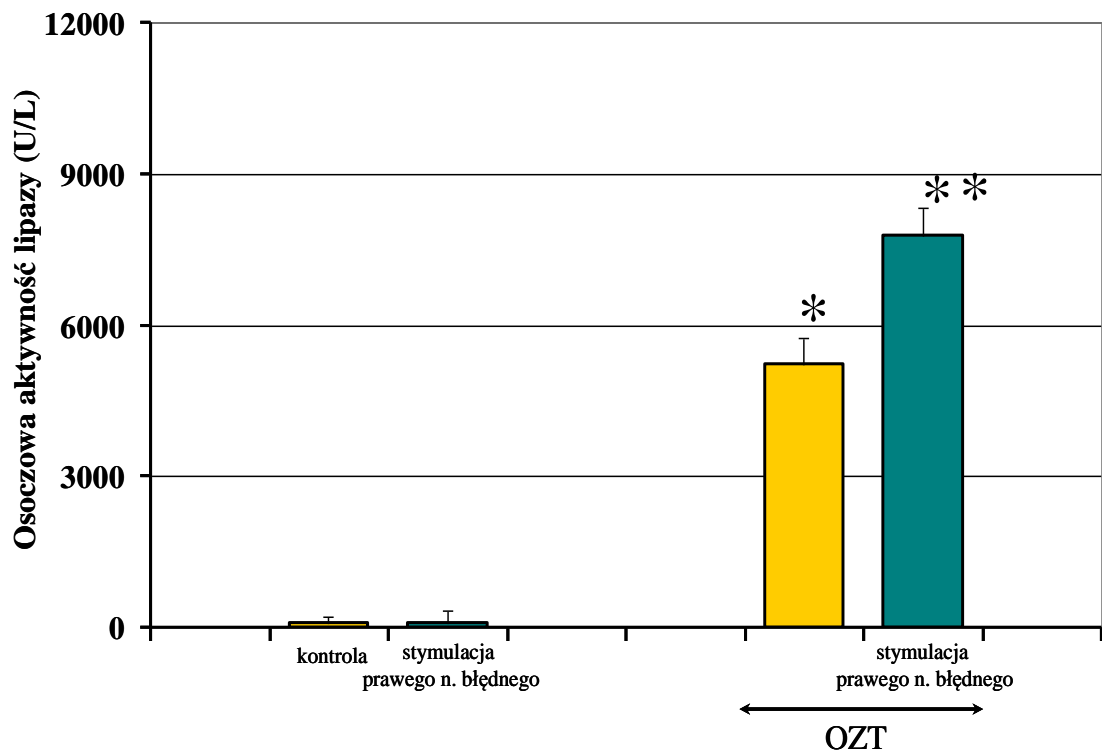
3.5.2. Aktywność amylazy i lipazy w osoczu

U szczurów poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego (bez OZT) aktywność amylazy w osoczu krwi uległa niewielkiemu obniżeniu do wartości 1500 ± 95 IU/L w porównaniu do wartości u zwierząt bez stymulacji prawego nerwu błędnego (1707 ± 78 IU/L). Stymulacja prawego nerwu błędnego u zwierząt poddanych następnie OZT spowodowała niewielkie zwiększenie aktywności amylazy do wartości 10492 ± 200 IU/L, w porównaniu do zwierząt z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego (9500 ± 65 IU/L) (Ryc.36).



Ryc. 36. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statycznie znamienne wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego.

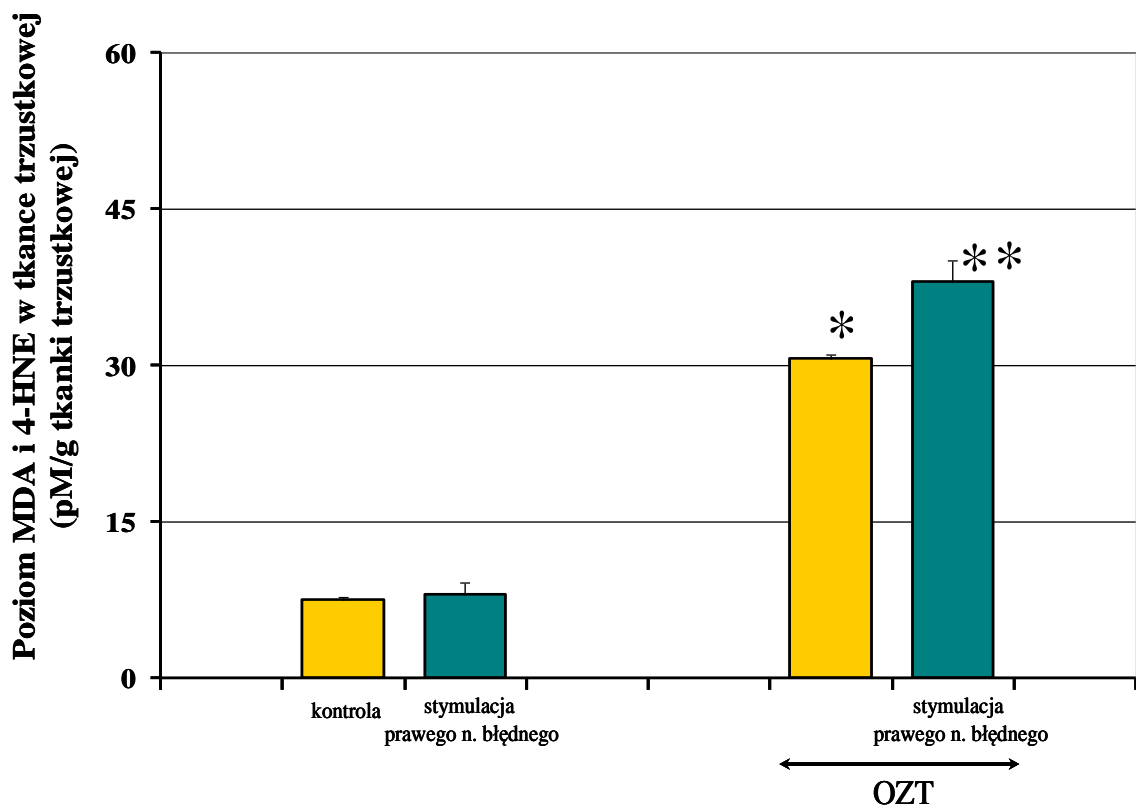
U szczurów poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego (bez OZT) aktywność lipazy w osoczu krwi nie uległa znaczącej statystycznie zmianie (95 ± 250 U/L), w porównaniu do wartości otrzymanych od zwierząt bez stymulacji prawego nerwu błędnego (100 ± 7 U/L). Stymulacja prawego nerwu błędnego u zwierząt, które poddane zostały OZT spowodowała znaczące statystycznie zwiększenie aktywności osoczowej lipazy (7778 ± 550 U/L), w porównaniu do zwierząt z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego (5225 ± 210 U/L) (Ryc.37).



Ryc. 37. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statycznie znamienne wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego.

3.5.3. Stężenie MDA + 4-HNE w tkance trzustkowej

Stymulacja prawego nerwu błędnego (bez OZT) spowodowała niewielki wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w trzustce (8 ± 1.2 pM/g tkanki trzustkowej). OZT, poprzedzone stymulacją prawego nerwu błędnego, spowodowało wzrost MDA + 4-HNE do wartości 38 ± 2 pM/g tkanki trzustkowej, w porównaniu do zwierząt z OZT bez wykonanej stymulacji prawego nerwu błędnego (30.6 ± 3.0 pM/g tkanki trzustkowej) (Ryc.38).



Ryc. 38. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia. Wyniki przedstawiają średnie \pm SEM z 4 eksperymentów w grupach liczących 10 – 12 szczurów. Gwiazdka (*) oznacza statystycznie znamienne wzrost badanej wartości w porównaniu z wartością kontrolną. Podwójna gwiazdka (**) oznacza statycznie znamienne wzrost wartości w porównaniu z wartością otrzymującą od szczurów z OZT bez stymulacji prawego nerwu błędnego.

Rozdział IV Dyskusja

4.1. Ostre zapalenie trzustki

Dootrzewnowe podanie ceruleiny spowodowało wystąpienie ostrego zapalenie trzustki u wszystkich badanych zwierząt. Zaobserwowano spadek trzustkowego przepływu krwi oraz cechy morfologiczne ostrego zapalenia trzustki w postaci obrzęku międzyzrazikowego i śródzrazikowego, wakuolizacji komórek pęcherzykowych, nagromadzenia komórek zapalnych, głównie neutrofilów których skupiska zamykając naczynia powodowały zaburzenia mikrokrążenia i gromadzenie się płynu w przestrzeni śródmiąższowej. Obserwowanym zmianom towarzyszył znamieny wzrost aktywności lipazy trzustkowej i amylazy, jak również wzrost poziomu TNF α i interleukiny 6 (IL-6) w surowicy krwi oraz wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) w tkance trzustkowej jako wskaźnik generacji wolnych rodników. Zmiany powyższe są charakterystyczne dla ceruleinowego zapalenia trzustki i były opisywane w wielu innych publikacjach [34-36,38,52,61].

Badania dowodzą, że zaburzenia mikrokrążenia trzustki odgrywają ważną rolę w patofizjologii ostrego zapalenia trzustki. Opublikowane wcześniej prace wskazują, że ostre zapalenie trzustki jest związane ze zmniejszeniem przepływu krwi przez ten narząd [6,61,69-72]. Zaburzenie przepływu krwi przez gruczoł trzustkowy jest spowodowane skurczem naczyń wywołanym pobudzeniem układu współczulnego oraz działaniem endogennej endoteliny uwalnianej przez komórki śródbłonna mięśni gładkich naczyń

krwionośnych oraz leukocyty. Skurcz mięśniówki powoduje zmniejszenie przepływu krwi przez naczynia włosowate trzustki co wywołuje zastój krwi. W konsekwencji dochodzi do zwiększenia przepuszczalności naczyń włosowatych. Zwolnienie przepływu krwi wywołane skurczem naczyń powoduje zmiany zakrzepowe w naczyniach włosowatych, aktywację i adhezję leukocytów do śródbłonna naczyń międzyzrazikowych. Następuje uwalnianie i aktywacja enzymów trawiennych, wolnych rodników tlenowych i cytokin prozapalnych [26,60-62,73,88-89].

4.2. Wagotomia obustronna

W moich badaniach obserwowałam, że obustronna wagotomia poprzedzająca wywołanie ostrego zapalenia trzustki wywarła korzystny wpływ na gruczoł trzustkowy. Wpływ ten uwidocznił się w postaci zwiększonego przepływu krwi w gruczole trzustkowym, wyraźnym zmniejszeniem aktywności lipazy trzustkowej i amylazy w surowicy krwi oraz znamienym spadkiem poziomu produktów peroksydacji lipidów w tkance trzustkowej. Protekcyjne działanie obustronnej wagotomii potwierdzone zostało w obrazie histopatologicznym w postaci znacznej redukcji obrzęku międzyzrazikowego, jak również zmniejszeniem nacieku okołonaczyniowego leukocytów oraz wakuolizacji.

Wcześniej opublikowane badania wykazały, że po wykonaniu wagotomii ostre zapalenie trzustki przebiegało łagodniej, a aktywność amylazy zanotowana nawet po 24 godzinach od wywołania zapalenia była mniejsza niż ta, która została zmierzona w tym samym czasie u zwierząt z OZT bez wagotomii. Również morfologiczne oznaki zapalenia trzustki po wykonaniu wagotomii były mniejsze. Dodatkowo obserwowano zmniejszenie poziomu wapnia w surowicy krwi oraz niejednoznaczne zmiany poziomu CRP i IL-6 w surowicy krwi [22].

Opisywano również korzystny efekt wagotomii u szczurów z ceruleinowym zapaleniem trzustki, u których zaobserwowano spadek aktywności amylazy, lipazy trzustkowej oraz TNF α w porównaniu do zwierząt kontrolnych [91].

Inne doniesienie, którego potwierdzeniem są wyniki moich badań opublikowano w 2007 roku udowadniając, że obustronna wagotomia poprawia przepływ krwi przez trzustkę [57]. Poprawę trzustkowego przepływu krwi po wykonaniu trzewnej wagotomii obustronnej u szczurów stwierdzono również w innym doświadczeniu wykazując trzykrotny wzrost trzustkowego przepływu krwi w stosunku do przepływu w gruczole trzustkowym z OZT bez wagotomii [56].

Hiszpańscy badacze opisują natomiast efekty wagotomii u szczurów wskazujące na znaczną redukcję wydzielania soku trzustkowego, spadek białka całkowitego w surowicy krwi oraz amylazy w porównaniu z kontrolą, którą stanowiły zwierzęta bez wykonanej wagotomii [74]. Należy podkreślić, że redukcja wydzielania enzymów trzustkowych może być odpowiedzialna za zmniejszenie uszkodzenia gruczołu trzustkowego w przebiegu OZT.

Własne badania eksperymentalne wykazały, że ekspozycja na endotoksyny we wczesnym okresie życia spowodowała zmniejszenie zdolności zewnątrzwydzielniczej trzustki, co wpłynęło korzystnie na gruczoł trzustkowy poddany OZT [70-71]. Wydaje się, że pewna niedomoga zewnątrzwydzielnicza trzustki może mieć ochronne znaczenie w przebiegu OZT, wynikające ze zredukowania ilości uszkodzających enzymów w tkance trzustkowej.

4.3. Wagotomia jednostronna (prawostronna i lewostronna)

Wykonanie wagotomii prawostronnej poprzedzone wywołaniem ostrego zapalenia trzustki spowodowało zwiększenie trzustkowego przepływu krwi, zmniejszenie aktywności lipazy trzustkowej i amylazy w surowicy oraz spadek poziomu peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w tkance trzustkowej. Zmiany te potwierdza obraz histopatologiczny gruczołu trzustkowego (zmniejszenie obrzęku międzyzrazikowego, zmniejszenie nacieku okołonaczyniowego leukocytów).

Lewostronna wagotomia poprzedzająca wywołanie ostrego zapalenia trzustki spowodowała również zwiększenie przepływu trzustkowego krwi, znaczące zmniejszenie aktywności lipazy trzustkowej i amylazy w surowicy krwi oraz spadek poziomu peroksydacji lipidów w trzustce w porównaniu z wynikami zarejestrowanymi u szczurów z OZT bez wykonanej wagotomii lewostronnej. Zaobserwowałam tam również w obrazie histopatologicznym gruczołu trzustkowego zaledwie średnio nasilony obrzęk międzyzrazikowy ze śladami obrzęku wewnątrzszazikowego oraz niewielki naciek okołonaczyniowy leukocytów.

Wzrost lub spadek wymienionych paramentów po jednostronnym przecięciu nerwu błędnego wskazywał na działanie protekcyjne wagotomii w stosunku do trzustki z OZT. Wyraźniejsze złagodzenie stanu zapalnego w OZT obserwowano po uprzednim wykonaniu wagotomii lewostronnej.

Opisywano zmiany poziomu IL-6 oraz zmiany cech morfologicznych tkanki trzustkowej u myszy z ostrym ceruleinowym zapaleniem trzustki poprzedzonym wykonaniem wagotomii lewostronnej. Odnotowano zmniejszenie obrzęku, nacieku leukocytnego w gruczole trzustkowym oraz spadek poziomu IL-6 w surowicy krwi u zwierząt z OZT i wagotomią w porównaniu do myszy z zachowanymi nerwami błędnymi [75].

4.4. Stymulacja prawego nerwu błędnego

Stymulacja prawego nerwu błędnego poprzedzająca wywołanie ostrego zapalenie trzustki spowodowała niewielki wzrost przepływu trzustkowej krwi, niewielki wzrost aktywności amylazy, znamienne wzrost aktywności lipazy trzustkowej we krwi i niewielki wzrost produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) w tkance trzustkowej w stosunku do OZT bez stymulacji. W obrazie histopatologicznym nie zaobserwowano zaostrzenia zmian zapalnych w obrębie gruczołu trzustkowego.

Opublikowana w roku 2007 praca wskazuje że stymulacja nerwów błędnych jest połączona ze wzrostem przepływu krwi przez trzustkę. Główną rolę w tej regulacji mikrokrążenia trzustki odgrywa tlenek azotu (NO) [59]. Inna praca miała na celu określenie wpływu stymulacji szyjnego odcinka nerwu błędnego prawego na wystąpienie zawału niedokrwienego mózgu u szczurów. Wydaje się, że taka stymulacja chroni przed zawałem niedokrwienym mózgu [76-77]. Działanie chroniące przed udarem niedokrwienym może być wynikiem zahamowania syntezy cytokin, a tym samym jak można sądzić zapobiega uszkodzeniom tkanek w różnych warunkach (posocznicy, wstrząsu krwotocznego, niedokrwienia i reperfuzji) [70,77]. Jednak, jak wskazują moje badania, w stosunku do trzustki poddanej OZT stymulacja prawego nerwu błędnego wywierała działanie raczej potęgujące uszkodzenie niż protekcyjne.

4.5. Stymulacja lewego nerwu błędnego

Wywołanie ostrego zapalenia trzustki poprzedzone stymulacją lewego nerwu błędnego spowodowało niewielki wzrost przepływu trzustkowej krwi, znaczący wzrost aktywności amylazy i lipazy trzustkowej w surowicy krwi oraz niewielki wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) w tkance trzustkowej. W obrazie histopatologicznym zaobserwowano zaostrzenie stanu zapalnego w obrębie gruczołu trzustkowego manifestujące się znacznym obrzękiem śródzrazikowym i wewnątrzrazikowym, silnym naciekiem leukocytów i dużą wakuolizacją komórek. Powyższe wyniki moich badań są zgodne z wcześniej opublikowanymi pracami, w których stymulacja nerwów błędnych spowodowała znaczący wzrost interleukiny prozapalnej TNF α w surowicy w stosunku do kontroli [78]. Podobne obserwacje zanotowano w pracy z 2002 roku opisującej odpowiedź zapalną u szczurów poddanych działaniu lipopolisacharydu (LPS). Stymulacja zarówno lewego jak i prawego nerwu błędnego spowodowała wyraźny wzrost TNF α w surowicy [79].

Powyższe prace są jednymi z nielicznych dotyczących wpływu stymulacji nerwów błędnych na funkcje trzustki. W jednym z późniejszych badań pobudzenie nerwu błędnego bodźcami o amplitudzie 4 V i częstotliwości 20 Hz u szczurów z zapaleniem trzustki spowodowało wzrost przepływu soku trzustkowego, wzrost białka całkowitego oraz aktywność amylazy w surowicy krwi w porównaniu z kontrolą, która stanowiły zwierzęta bez stymulacji n. X [74].

Stymulacja nerwów błędnych powoduje zaostrzenie zapalenia trzustki oraz związane z tym nagromadzenie produktów peroksydacji lipidów. W moich badaniach wykazałam, że pobudzenie nerwów błędnych u szczurów z OZT związane było ze zwiększeniem stężenia produktów peroksydacji (MDA + 4-HNE) w tkance trzustkowej

u szczurów z OZT w porównaniu do szczurów z OZT bez stymulacji nerwów. Praca *Miwa i wsp.* dotyczyła wpływu HNE oraz innych produktów peroksydacji lipidów na zdolność uwalniania insuliny z wysp trzustkowych. Badania wskazują, że HNE i inne produkty peroksydacji lipidów mogą upośledzać uwalnianie insuliny (indukowane przez glukozę) prawdopodobnie poprzez wpływ zarówno na szlaki glikolizy jak i cyklu kwasu cytrynowego [67]. Wskazuje to, że w trzustce zapalnej pod wpływem stymulacji nerwów błędnych dochodzi do przesunięcia metabolizmu na tory beztlenowe a nagromadzenie produktów przemian beztlenowych powoduje dodatkowe zaburzenia.

W badaniu wykonanym w końcu lat 80-tych stymulowano nerw błędny impulsami o różnej częstotliwości i obserwowano parametry takie jak: wydzielanie kwasu żołądkowego, stężenie insuliny, glukagonu i glukozy, a także akcję serca i średnie ciśnienie tętnicze. Widoczne były różnice w odpowiedzi ze strony żołądka, trzustki i układu krążenia zależne od częstości pobudzeń [80].

Jednak nie zawsze aktywacja nerwu błędnego potęguje uszkodzenie tkanki trzustkowej. Istnieją badania wskazujące, że uwalnianie niektórych mediatorów z zakończeń nerwu błędnego może wywierać na trzustkę korzystne działanie.

Praca *Rongqian i wsp.* wskazuje na korzystny wpływ podawania greliny w przebiegu sepsy. Grelina za pośrednictwem nerwu błędnego łagodzi reakcje zapalne. Wcześniejsze badania wykazały, że grelina chroni serce, nerki, i mózg przed uszkodzeniami wywołanymi niedotlenieniem oraz zmniejsza też uszkodzenia płuc i śmiertelność w przebiegu uogólnionego zakażenia [81-84]. W obrębie przewodu pokarmowego wykazano protekcyjne działanie greliny na żołądek i trzustkę [85-86]. We wspomnianej pracy wykazane zostało, że podanie greliny znacznie zmniejsza poziom TNF α i IL-6 w przebiegu sepsy. Stwierdzono, że grelina działa ochronnie na trzustkę w przebiegu sepsy przez aktywację nerwu błędnego [85,87,90]. Podobne

obserwacje dotyczą korzystnego wpływu greliny na trzustkę w jej ostrym ceruleinowym zapaleniu. Również nasze ostatnie wyniki pokazują, że grelina jest w stanie zapobiec uszkodzeniu gruczołu trzustkowego w ostrym zapaleniu tego gruczołu [72].

Podsumowanie

W mojej pracy wykazałam, że wagotomia obustronna wywiera działanie protekcyjne w stosunku do gruczołu trzustkowego u szczurów z ostrym zapaleniem trzustki. Potwierdzeniem ochronnego wpływu wagotomii jest zmniejszenie morfologicznych cech zapalenia, obniżona aktywność enzymów wskaźnikowych amylazy i lipazy trzustkowej w osoczu oraz zwiększenie trzustkowego przepływu krwi.

Złagodzenie ostrego zapalenia trzustki zaobserwowałam również po wykonaniu wagotomii jednostronnych, przy czym korzystniejszy efekt występował po wykonaniu wagotomii lewostronnej. Jest to wyraźnie uwidocznione w obrazie histopatologicznym, spadku aktywności enzymów wskaźnikowych we krwi oraz zmniejszeniu produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w tkance trzustkowej.

Stymulacja nerwu błędnego zarówno prawego jak i lewego spowodowała zaostrzenie zmian zapalnych. Bardziej spektakularne efekty zapalne wystąpiły po stymulacji lewego nerwu błędnego co uwidocznilo się wzrostem aktywności lipazy trzustkowej i amylazy w osoczu krwi oraz nasilonymi zmianami zapalnymi w badaniu histopatologicznymi gruczołu trzustkowego. Zaobserwowałam zwiększenie obrzęku śródzrazikowego oraz znacznie bardziej uwidoczniona wakuolizacją komórek w porównaniu do zmian występujących u szczurów z OZT bez stymulacji nerwów błędnych. Po stymulacji prawego nerwu błędnego stwierdziłam wzrost aktywności amylazy we krwi oraz produktów peroksydacji lipidów (MDA + 4-HNE) w tkance trzustkowej, jednak bez znamienego zwiększania morfologicznych cech zapalenia gruczołu.

Wnioski

1. U zwierząt poddanych ostremu zapaleniu trzustki, które poprzedzone zostało wykonaniem obustronnej wagoatomii stwierdzono zmniejszenie nasilenia zmian zapalnych w porównaniu z OZT bez wagoatomii.
2. Wywołanie ostrego zapalenia trzustki, poprzedzone wykonaniem wagoatomii jednostronnej wywarło również korzystny wpływ na trzustkę przy czym wagoatomia lewostronna spowodowała bardziej spektakularny efekt przeciwzapalny.
3. Mechanizm korzystnego działania wagoatomii w przebiegu OZT jest najprawdopodobniej związany ze zmniejszoną czynnością zewnątrzwydzielniczą trzustki, zmniejszeniem wytwarzania wolnych rodników i zmniejszeniem produkcji interleukin co wyraża się zmniejszeniem trzustkowego przepływu krwi.
4. Stymulacja nerwów błędnych poprzedzająca wywołanie ostrego obrzękowego zapalenia trzustki nasiliła zmiany zapalne w obrębie gruczołu trzustkowego. Silniejsze zmiany zapalne występują po pobudzeniu lewego nerwu błędnego prawdopodobnie ze względu na anatomiczne położenie trzustki.

Streszczenie

Nerwy błędne biorą udział w regulacji wydzielania trzustkowego, ale rola tych nerwów w patogenezie ostrego zapalenia trzustki nie była dotychczas tematem regularnych badań. Celem pracy było określenie udziału nerwu błędnego w patogenezie ostrego ceruleinowego zapalenia trzustki (OZT) u szczura. Badania obejmowały ocenę wpływu wagotomii obustronnej, jednostronnej (pravo- lub lewostronnej) oraz stymulacji pojedynczego nerwu błędnego (prawego lub lewego) na przebieg OZT.

Badania przeprowadzono na szczurach rasy Wistar. U zwierząt została wykonana obustronna lub jednostronna wago- tomia poprzez przecięcie nerwów błędnych poniżej poziomu przepony. W kolejnych grupach szczurów zostały założone mikrostymulatory (mikroczipy) na nerw błędy (prawy lub lewy). Cztery dni po wykonaniu zabiegu zostało wywołane ostre zapalenie trzustki poprzez podskórne podanie caeruleiny (5 µg/kg-h) przez okres 5 godzin. Po zakończeniu doświadczenia wykonano pomiar trzustkowego przepływu krwi, pobrano gruczoł trzustkowy celem pomiaru masy trzustki i wykonania oceny histologicznej oraz próbkę tkanki trzustkowej celem pomiaru produktów utleniania lipidów błonowych malonyldialdehydu i 4-hydroksynonenalu (MDA i 4-HNE). Oznaczono również aktywność amylazy i lipazy w osoczu krwi.

U szczurów z OZT zanotowano niemal dwukrotny wzrost masy trzustki oraz zwiększenie aktywności amylazy i lipazy w osoczu krwi w porównaniu do wartości kontrolnych uzyskanych u zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną, zamiast caeruleiny. Wystąpiła również redukcja trzustkowego przepływu krwi oraz wzrost w tkance trzustkowej poziomu produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE).

Ponadto zaobserwowano charakterystyczne cechy zapalenia trzustki w badaniu histologicznym: znaczny obrzęk śródzrazikowy z okołonaczyniowym naciekiem leukocytów i wakuolizacją komórek pęcherzykowych.

U zwierząt z OZT, poprzedzonym wykonaniem wagoatomii obustronnej, odnotowano wyraźny spadek aktywności amylazy i lipazy w osoczu krwi, poprawę trzustkowego przepływu krwi oraz redukcję poziomu produktów peroksydacji lipidów w tkance trzustkowej. Powyższym zmianom towarzyszył niewielki obrzęk międzyczrazikowy, naciek okołonaczyniowy leukocytów i komórkowa wakuolizacja niewielkiego stopnia.

U szczurów poddanych wagoatomii prawostronnej, a następnie wywołanym OZT stwierdzono zmniejszenie masy trzustki, aktywności enzymów trzustkowych w osoczu krwi i redukcję trzustkowych produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) w porównaniu do zwierząt z OZT z zachowanymi nerwami błędnymi. Ponadto odnotowano znaczne zmniejszenie obrzęku międzyczrazikowego, a po wagoatomii lewostronnej dodatkowo zmniejszenie obrzęku wewnątrzczrazikowego i nacieku okołonaczyniowego leukocytów jak również wakuolizacji komórek pęcherzykowych. Złagodzenie oznak OZT było wyraźniejsze po wykonaniu wagoatomii lewostronnej.

Stymulacja lewego nerwu błędnego zaostriła zmiany zapalne co uwidocznilo się wzrostem aktywności lipazy i amylazy w osoczu krwi oraz spadkiem trzustkowego przepływu krwi. Stwierdzono również nasilone zmiany w obrazie histopatologicznym: znaczny obrzęk śródzrazikowy i wewnątrzczrazikowy, silny naciek leukocytów i wakuolizację komórek.

Stymulacja prawego nerwu błędnego nieznacznie zaostriła zmiany zapalne uwidocznione w obrazie histologicznym, którym towarzyszył wzrost aktywności

amylazy i lipazy w osoczu krwi oraz poziomu peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE) w tkance trzustkowej.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że wagotomia obustronna wywiera działanie protekcyjne na gruczoł trzustkowy u szczurów z OZT. Złagodzenie oznak OZT wystąpiło również po wykonaniu wagotomii jednostronnych przy czym korzystniejszy efekt był obserwowany po wagotomii lewostronnej. Natomiast stymulacja nerwów błędnych zaostreza zmiany zapalne trzustki co było wyraźniej zaznaczone u zwierząt z OZT poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego.

Abstract

Vagal nerves are implicated in the regulation of pancreatic secretions, but the role of these nerves in pathogenesis of acute pancreatitis has not been the subject of regular study. This study was undertaken to evaluate the effect of vagal nerves on the course of acute pancreatitis (AP) induced by caerulein overstimulation in the rat. The thesis included an assessment of the impact of bilateral vagotomy, unilateral (right- or left-sided) or vagal nerve stimulation (right or left) on the course of AP.

The study was performed on Wistar rats. Animals were surgically prepared by bilateral, unilateral (right- or left-sided) vagotomy by cutting the vagal nerves. To stimulate vagal nerve microchips were placed on the right or left vagus in the separate groups of rats. Four days after surgery, AP was induced by subcutaneous infusion of caerulein (5 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h} \times 5 \text{ h}$). After the experiment pancreatic gland was taken to measure pancreas weight, to examine the levels of lipid peroxidation products (MDA and 4-HNE). The blood samples were taken for determination of plasma amylase and lipase activity. Pancreatic blood flow (PBF) was measured by a laser Doppler flowmetry, samples of pancreatic tissue were subjected to histological examination

In AP rats pancreatic weight was almost twice increased, serum amylase and lipase activities of rats with acute pancreatitis were significantly augmented as compared to AP rats with intact vagal nerves. In these rats PBF and levels of lipid peroxidation products were markedly increased. In AP rats pancreatic edema, neutrophil infiltration, vacuolization and hemorrhagic changes were observed.

In vagotomized rats, subjected to AP serum amylase and lipase activities were significant decreased, PBF and lipid peroxidation products in pancreatic tissue were

markedly reduced. This was accompanied by minor interlobular, leukocyte infiltration and small degree of vacuolation.

Right-sided vagotomy caused a significant reduction of pancreatic mass and significant decreases of plasma amylase and lipase activities as well as reduction of lipid peroxidation products (MDA and 4-HNE) in the pancreas as compared to the parameters observed in animals with AP alone. In addition, there was a significant reduction of interlobular edema and infiltration of leukocytes. Relief of signs of acute pancreatitis was more pronounced in the AP animals subjected to left-sided vagotomy.

Stimulation of left vagal nerve exacerbated acute pancreatitis, increased serum activities of lipase and amylase decreased PBF. It was also found severe histopathological changes such as: significant swelling and interlobular edema, strong infiltration of leukocytes and vacuolation of acinar cells as compare to AP rats without vagal stimulation.

Stimulation of right vagal nerve increased visible signs of pancreatic inflammation such as interlobular swelling, which was accompanied by increase of amylase and lipase serum activities and significant augmentation of lipid peroxidation (MDA and 4-HNE) in pancreatic tissue.

Bilateral vagotomy has protective influence on the pancreatic gland in rats with AP. Relief of signs of acute pancreatitis also occurred after unilateral vagotomy being more pronounce after cutting left vagal nerve. Vagal nerve stimulation exacerbates pancreatic inflammatory changes.

Spis rycin

Ryc. 1. Odruch jelitowo – trzustkowy.

Ryc. 2. Fazy wydzielania trzustkowego.

Ryc. 3. Schemat wywołania OZT.

Ryc. 4. Schemat wywołania OZT poprzedzone wagotomią obustronną.

Ryc. 5. Schemat wywołania OZT poprzedzone wagotomią jednostronną.

Ryc. 6. Schemat wywołania OZT poprzedzone stymulacją pojedynczego nerwu błędnego.

Ryc. 7. Mikroskopowy obraz prawidłowej trzustki szczura.

Ryc. 8. Mikroskopowy obraz trzustki szczura poddanego hiperstymulacji ceruleinowej.

Ryc. 9. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po 4 dniach od przeprowadzonej wagotomii obustronnej.

Ryc. 10. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura poddanego wcześniej obustronnej wagotomii.

Ryc. 11. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 12. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 13. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 14. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 15. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) w trzustce mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii obustronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 16. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po wagotomii lewostronnej.

Ryc. 17. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po wcześniejszym wykonaniu wagotomii lewostronnej.

Ryc. 18. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po wagotomii prawostronnej.

Ryc. 19. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po wcześniejszym wykonaniu wagotomii prawostronnej.

Ryc. 20. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 21. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 22. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 23. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 24. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) w tkance trzustkowej mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych wagotomii jednostronnej z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 25. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po stymulacji lewego nerwu błędnego.

Ryc. 26. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po stymulacji lewego nerwu błędnego.

Ryc. 27. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 28. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzony w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 29. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 30. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 31. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji lewego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 32. Mikroskopowy obraz trzustki szczura po stymulacji prawego nerwu błędnego.

Ryc. 33. Mikroskopowy obraz ostrego zapalenia trzustki u szczura po stymulacji prawego nerwu błędnego.

Ryc. 34. Masa trzustki (mg) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 35. Trzustkowy przepływ krwi (ml/min/100 g trzustki) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 36. Osoczowa aktywność amylazy (IU/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 37. Osoczowa aktywność lipazy (U/L) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Ryc. 38. Poziom MDA i 4-HNE (pM/g tkanki trzustkowej) mierzona w grupie szczurów z zachowanymi nerwami błędnymi oraz u zwierząt poddanych stymulacji prawego nerwu błędnego z ostrym zapaleniem trzustki oraz bez zapalenia.

Spis tabel

Tabela 1. Czynniki etiologiczne OZT (wg Toouli).

Tabela 2. Teorie patogenetyczne przewlekłego alkoholowego zapalenia trzustki (wg Stevens'a).

Tabela 3. Wpływ podawania ceruleiny (5 □g/kg/h x 5h) na masę trzustki, trzustkowy przepływ krwi, osoczną aktywność amylazy i lipazy oraz poziom MDA i 4-HNE w tkance trzustkowej.

Tabela 4. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5□g/kg/godzinę przez 5 godzin) u szczurów bez wagotomii oraz u zwierząt z przeprowadzoną wagotomią obustronną.

Tabela 5. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5□g/kg/godzinę przez 5 godzin) poprzedzonego wagotomią jednostronną.

Tabela 6. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5□g/kg/godzinę przez 5 godzin) poprzedzonego stymulacją lewego nerwu błędnego.

Tabela 7. Zmiany histologiczne wywołane podskórną infuzją ceruleiny (5□g/kg/godzinę przez 5 godzin) poprzedzonego stymulacją prawego nerwu błędnego.

Piśmiennictwo:

1. Konturek S.J., Zabielski R., Konturek J.W., Czarnecki J. *Neuroendocrinology of the pancreas: role of brain-gut axis in pancreatic secretion* Eur. J. Pharmacol. 2003; 481:1-14.
2. Tracey K.J. *The inflammatory reflex* Nature 2002; 420:853-859.
3. Xiaoying D., Withcomb D.C. *Neurohormonal control of the exocrine pancreas* Gastroenterology 1998; 14:362-368.
4. Konturek S.J. (red.) *Gastroenterologia i hepatologia kliniczna* 2006; Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
5. Eskandri F., Jeanette W.I., Sternberg E.M. *Neural immune pathways and their connection inflammatory diseases* Arthritis Res. Ther. 2003; 5:251-165.
6. Konturek S.J., Zabielski R., Bonior J., Konturek P.C., Jaworek J., Hahn E. *Oś mózgowo-jelitowa w regulacji wydzielania trzustkowego i kontroli przyjmowania pokarmu* Gastroenterologia 2004; 3:10-17.
7. Li Y., Wu X., Zhu J., Yan J., Owyang C. *Hypothalamic regulation of pancreatic secretion is mediated by central cholinergic pathways in the rat* J. Physiol. 2003; 52:571-587.
8. Owyang C., Logston C.D. *New insights into neurohormonal regulation of pancreatic secretion* Gastroenterology 2004; 127(3):957-969.
9. Buijs R.M., Chun S.J., Niiijima A., Romijn H.J., Nagai K. *Parasympathetic and sympathetic control of the pancreas: a role for the suprachiasmatic nucleus and other hypothalamic centers that are involved in the regulation of food intake* J. Comp. Neurol. 2001; 431(4):405-423.
10. Suzuki S., Kanai S., Miyasaka K., Jimi A., Funakoshi A. *Regulation of pancreatic secretion by vagal nerve during short-term duct occlusion in conscious rats* Pancreas 2000; 20(1):94-101.
11. Yago M.D., Manas M., Ember Z., Singh J. *Nitric oxide and the pancreas: morphological base and role in the control of the exocrine secretion* Moll. Cell. Biochem. 2001; 219:107-120.

12. Viard E., Zheng Z., Wan S., Travagli R.A. *Vagally mediated, nonparacrine effects of cholecystinin-8s on rat pancreatic exocrine secretion* Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2007; 293(2):493-500.
13. Nathan J.D., Liddle R.A. *Neurohormonal control of pancreatic exocrine secretion* Curr. Opin. Gastroenterol. 2002; 18:536-544.
14. Niebergall-Roth E., Singer M.V. *Central and peripheral neural control of pancreatic exocrine secretion* J. Physiol. Pharmacol. 2001; 52:523-538.
15. Konturek S.J., Pepera J., Zabielski R., Konturek P.C., Pawlik T., Szlachcic J., Hahn E.G., *Brain-gut axis in pancreatic secretion and appetite control* J. Physiol. Pharmacol. 2003; 54:293-317.
16. Ying L., Owyang C. *Musing on the wanderer: what's new in our understanding of vago-vagal reflexes? V. Remodeling of vagus and enteric neural circuitry after vagal injury* Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2003; 285:461-469.
17. Ji J., Dheen S.T., Tay S.S. *Molecular analysis of the vagal motoneuronal degeneration after right vagotomy* J. Neurosci. Res. 2002; 69(3):406-417.
18. Tanaka T., Van Klompenberg L.H., Sarr M.G. *Selective role of vagal and nonvagal innervation in initiation and coordination of gastric and small bowel patterns of interdigestive and postprandial motility* J. Gastrointest. Surg. 2001; 5(4):418-433.
19. Berthoud H.R., Neuhuber W.L. *Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system* Auton Neurosci 2000; 85(1-3):1-17.
20. Zhang X., Renehan W.E., Fogel R. *Vagal innervations of the rat duodenum* J. Auton. Nerv. Syst. 2000; 79:8-18.
21. Li Y., Owyang C. *Musings on the wanderer: what's new in our understanding of vago-vagal reflexes? Remodeling of vagus and enteric neural circuitry after vagal injury* Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2003; 285(3):461-469
22. Li J., Chen D., Tian Y. *Effect of vagotomy on acute pancreatitis in rats* J. Tongji Med. Univ. 2000; 20(3):235-238.
23. [Aghdassi A.A.](#), [Mayerle J.](#), [Kraft M.](#), [Sielenkämper A.W.](#), [Heidecke C.D.](#), [Lerch M.M.](#) *Pancreatic pseudocysts – when and how to treat?* HPB (Oxford) 2006; 8(6):432-441.
24. Talamini G., [Falconi M.](#), [Bassi C.](#), [Mastromauro M.](#), [Salvia R.](#), [Pederzoli P.](#) *Chronic pancreatitis: relationship to acute pancreatitis and pancreatic cancer* JOP 2000; 1:69-76.

25. Hirota M., Nozawa F., Okabe A., Shibata M., Kuwata K., Ogawa M. *SIRS and CARS: discussion based on the pathologic condition of acute pancreatitis* *Rinsko Byori* 2000; 48(6):527-532.
26. Petrov M.S. *Revising the Atlanta Classification of Acute pancreatitis: Festina Lente* *J. Gastrointest. Surg.* 2010; 14:1474-75.
27. Takeda K., Yokoe M., Takada T., Kataoka K., Yoshida M., Gabata T., Hirota M., Mayumi T., Kadoya M., Yamanouchi E., Hattori T., Sekimoto M., Amano H., Wada K., Kimura Y., Kiriyama S., Arata S., Takeymana Y., Hirota M., Hirata K., Shimosegawa T. *Assessment of severity acute pancreatitis according to new prognostic factors and CT grading* *J. Hepatobiliary pancreat. Surg.* 2009; 17:37-44.
28. Toouli J. *Guidelines for the management of acute pancreatitis* *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2002; 17:S15-S39.
29. Liu H.B., Cui N.Q., Li D.H., Chen C. *Role of Kupffer cells in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis-associated lung injury of rats* *World J. Gastroenterol.* 2006; 12(3):403-407.
30. Elta G.H. *Sphincter of Oddi dysfunction and bile duct microlithiasis in acute idiopathic pancreatitis* *World J. Gastroenterol.* 2008; 14(7):1023-1026.
31. Toouli J. *The sphincter of Oddie and acute pancreatitis—revisited* *HPB Surg.* 2003; 5: 142-145.
32. Kelly T.R. *Gallstone pancreatitis Pathophysiology* *Surgery* 1976; 80:488.
33. Acosta J.M., Pellegrini C.A., Skinner D.B. *Etiology and pathogenesis of acute pancreatitis* *Surgery* 1980; 88:118.
34. Acosta J.M., Ledesma C.L. *Gallstone migration as a cause of acute pancreatitis* *N. Engl. J. Med.* 1974; 290:484.
35. Frossard J.L., Steer M.L., Pastor C.M. *Acute pancreatitis* *Lancet* 2008; 317:143-152.
36. Steer M.L. *The early intra acinar cell events which occur during acute pancreatitis* *Pancreas* 1998; 17(1):31-37.
37. Hegde A., Bhatia M. *Neurogenic inflammation in acute pancreatitis* *JOP* 2005; 6(5):417-421.
38. Bhatia M., Wong F.L., Cao Y., Lau H.Y., Huang J., Puneet P., Chevali L. *Pathophysiology of acute pancreatitis* *Pancreatology* 2005; 5:132-144.
39. Etemand B., Whitcomb D.C. *Chronic pancreatitis: diagnosis, classification and new genetic developments* *Gastroenterology* 2001; 120:682-707.

40. Otsuki M. *Chronic pancreatitis. The problems in diagnostic criteria* Pancreatology 2004; 4:28-41.
41. [Stevens T.](#), [Conwell D.L.](#), [Zuccaro G.](#) *Pathogenesis of chronic pancreatitis: an evidence-based review of past theories and recent developments* [Am. J. Gastroenterol.](#) 2004; 99(11):2256-70.
42. Bernik T.R., Friedman S.G., Ochani M., Di Raimo R., Ulloa L., Yang h., Sudan S., Czura C.J., Ivanova S.M., Tracey K.J. *Pharmacological Stimulation of the Cholinergic Antiinflammatory Pathway* J. Exp. Med. 2002; 195(6):781-788.
43. Gorelick F.S. *Alcohol and zymogen activation in the pancreatic acinar cell* Pancreas 2003; 27(4):305-310.
44. Thorn P., Fogarty K.E., Parker I. *Zymogen granule exocytosis is characterized by long fusion pore openings and preservation of vesicle lipid identity* Proc. Natl. Acad. Sci. 2004; 101(17):6774-6779.
45. Campos-Toimil M., Edwardson J.M., Thomas P. *Real-time studies of zymogen granule exocytosis in intact rat pancreatic acinar cells* J. Physiol. 2000; 528:317-326.
46. [van Acker G.J.](#), [Perides G.](#), [Steer M.L.](#) *Co-localization hypothesis: a mechanism for the intrapancreatic activation of digestive enzymes during the early phases of acute pancreatitis* [World J. Gastroenterol.](#) 2006; 12(13):1985-90.
47. Campos-Toimil M., Edwardson M., Thomas P. *Real-time studies of zymogen granule exocytosis in intact rat pancreatic acinar cells* J. Physiol. 2000; 528(2):317-326.
48. [Zhao M.](#), [Xue D.B.](#), [Zheng B.](#), [Zhang W.H.](#), [Pan S.H.](#), [Sun B.](#) *Induction of apoptosis by artemisinin relieving the severity of inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis* [World J. Gastroenterol.](#) 2007; 13(42):5612-5617.
49. [Camargo E.A.](#), [Esquisatto L.C.](#), [Esquisatto M.A.](#), [Ribela M.T.](#), [Cintra A.C.](#), [Giglio J.R.](#), [Antunes E.](#), [Landucci E.C.](#) *Characterization of the acute pancreatitis induced by secretory phospholipases A₂ in rats* [Toxicon](#) 2005; 46(8):921-926.
50. Beger H.G., Gansauge F., Mayer J.M. *The role of immunocytes in acute and chronic pancreatitis: when friends turn into enemies* Gastroenterology 2000; 118:626-629.

51. Wereszczyńska-Sięmiątkowska U., Dąbrowski A., Siemiątkowski A., Mroczko B., Laszewicz W., Gabryelewicz A. *Serum profiles of E-selectin (ES), interleukin-10 (IL-10) and interleukin-6 (IL-6) and oxidative stress parameters in patients with acute pancreatitis (AP) and non-pancreatic acute abdominal pain* *Pancreas* 2003; 26(2):144-152.
52. [Leindler L.](#), [Morschl E.](#), [László F.](#), [Mándi Y.](#), [Takács T.](#), [Jármai K.](#), [Farkas G.](#) *Importance of cytokines, nitric oxide, and apoptosis in the pathological process of necrotizing pancreatitis in rats* *Pancreas* 2004; 29(2):157-161.
53. Rau B., Poch B., Gausange F., Bauer A., Nussler A.K., Nevalainen T., Schoenberg M.H., Beger H.G. *Pathophysiologic role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage?* *Ann. Surg.* 2000; 231(3):352-360.
54. Sakorafas G.H., Tsiotos G.G., Sarr M.G. *Ischemia-reperfusion-induced pancreatitis* *Dig Surg* 2000; 17(1):3-14.
55. [Niedernhofer L.J.](#), [Daniels J.S.](#), [Rouzer C.A.](#), [Greene R.E.](#), [Marnett L.J.](#) *Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells* *J Biol Chem* 2003; 278(33):31426-31433.
56. Svensson A.M., Sandler S., Jansson L. *Role of superoxide anion in pancreatic islet blood flow regulation in anesthetized rats* *Eur. J. Pharmacol.* 2003; 459:59-64.
57. Bockman D.E. *Nerves in the pancreas: what are they for?* *Am. J. Surg.* 2007; 194:61-64.
58. Bockman D.E., *Morphology of pancreatic nerves in health and disease* W: Buchler M.W., Friess H., Uhl W., Malfertheiner P. (Eds) *Chronic Pancreatitis* Oxford: Blackwell 2002:163-169.
59. Love J.A., Yi E., Smith T.G. *Autonomic pathways regulating pancreatic exocrine secretion* *Autonomic Neuroscience: Auton Neurosci* 2007; 133:19-34.
60. Zhou Z.G., Chen Y.D., Sun W., Chen Z. *Pancreatic microcirculatory impairment in experimental acute pancreatitis in rats* *World J. Gastroenterol.* 2002; 8(5):933-936.
61. Zhou Z.G., Chen Y.D. *Influencing factor of pancreatic microcirculatory impairment in acute pancreatitis* *World J. Gastroenterol.* 2002; 8(3):406-412.
62. Sakorafas G.H., Tsiotos G.G., Sarr M.G. *Ischemia-reperfusion-induced pancreatitis* *Dig. Surg.* 2000; 17(1):3-14.

63. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W. *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej* Wydawnictwo Medyczne [Urban&Partner](#) 2010
64. Zilva J.F., Pannall P.R. *Plasma enzymes in diagnostic* In *Clinical Chemistry in Diagnostic and Treatment*. Lloyd-Luke London 1979; Chapter.
65. Mauk J.C., Weaver M.S., Stanton C.: *Development of a Kodak Ektachem clinical chemistry slide for lipase* Clin. Chem. 1984; 30:1058.
66. Jansson L., Carlsson P.O., Bodin B., Andersson A., Kallskog O. *Neuronal nitric oxide synthase and splanchnic blood flow in anesthetized rats* Acta. Physiol. Scand. 2005; 183(3):257-262.
67. [Miwa I](#), [Ichimura N](#), [Sugiura M](#), [Hamada Y](#), [Taniguchi S](#). *Inhibition of glucose-induced insulin secretion by 4-hydroxy-2-nonenal and other lipid peroxidation products* [Endocrinology](#) 2000; 141(8):2767-2772.
68. Hultstrom M., Jansson L., Bodin B., Kallskog O. *Moderate hypothermia induces a preferential increase in pancreatic islet blood flow in anesthetized rats* Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2007; 293(3):1438-1443.
69. Beck G.C., Yard B.A., Schulte J., Haak M., van Achern K., van der Woude F.J., Kaszlin M. *Secreted phospholipases A₂ induce the expression of chymokines in microvascular endothelium* Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003; 300(3):731-737.
70. [Jaworek J.](#), [Konturek S.J.](#), [Macko M.](#), [Kot M.](#), [Szklarczyk J.](#), [Leja-Szpak A.](#), [Nawrot-Porąbka K.](#), [Stachura J.](#), [Tomaszewska R.](#), [Siwicki A.](#), [Pawlik W.W.](#) *Endotoxemia in newborn rats attenuates acute pancreatitis at adult age* [J. Physiol. Pharmacol.](#) 2007; 58(1):131-147.
71. [Jaworek J.](#), [Leja-Szpak A.](#), [Nawrot-Porąbka K.](#), [Bonior J.](#), [Szklarczyk J.](#), [Kot M.](#), [Konturek S.J.](#), [Tomaszewska R.](#), [Pawlik W.W.](#) *Effect of neonatal endotoxemia on the pancreas of adult rats* [J. Physiol. Pharmacol.](#) 2008; 59(4):87-102.
72. [Jaworek J.](#) *Ghrelin and melatonin in the regulation of pancreatic exocrine secretion and maintaining of integrity* [J. Physiol. Pharmacol.](#) 2006; 57(5):83-96.
73. Pajdo R., Brzozowski T., Konturek P.C., Kwiecień S., Konturek S.J., Śliwowski Z., Pawlik M., Ptak A., Drozdowicz D., Hahn E.G. *Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves* Eur. J. Pharmacol. 2001; 21;427(3):263-7.

74. Wisdom D., Singh J., Camello P.J., Pariente J.A., Salido G.M. *Effect of secretion on vagal stimulation-evoked exocrine pancreatic secretion in the rat* *Rev. Esp. Fisiol.* 1993; 49:31-35.
75. [van Westerloo D.J.](#), [Giebelen I.A.](#), [Florquin S.](#), [Bruno M.J.](#), [Larosa G.J.](#), [Ulloa L.](#), [Tracey K.J.](#), [van der Poll T.](#) *The vagus nerve and nicotinic receptors modulate experimental pancreatitis severity in mice* *Gastroenterology* 2006; 130(6):1822-1830.
76. Tracey K.J. *Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway* *J. Clin. Invest.* 2007; 117(2):289-296.
77. [Ay I.](#), [Lu J.](#), [Ay H.](#), [Gregory Sorensen A.](#) *Vagus nerve stimulation reduces infarct size in rat focal cerebral ischemia* *Neurosci Lett* 2009; 459(3):147-151.
78. Borovikova L.V. *Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin* *Nature* 2000; 405:458-462.
79. Bernik T.R. *Pharmacological stimulation of the cholinergic anti-inflammatory pathway* *J. Exp. Med.* 2002; 195:781-788.
80. [Berthoud H.R.](#), [Powley T.L.](#) *Characteristics of gastric and pancreatic responses to vagal stimulation with varied frequencies: evidence for different fiber calibers?* *J. Auton. Nerv. Syst.* 1987; 19(1):77-84.
81. [Frascarelli S.](#), [Ghelardoni S.](#), [Ronca-Testoni S.](#), [Zucchi R.](#) *Effect of ghrelin and synthetic growth hormone secretagogues in normal and ischemic rat heart* *Basic Res. Cardiol.* 2003; 98(6):401-405.
82. [Takeda R.](#), [Nishimatsu H.](#), [Suzuki E.](#), [Satonaka H.](#), [Nagata D.](#), [Oba S.](#), [Sata M.](#), [Takahashi M.](#), [Yamamoto Y.](#), [Terauchi Y.](#), [Kadowaki T.](#), [Kangawa K.](#), [Kitamura T.](#), [Nagai R.](#), [Hirata Y.](#) *Ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure* *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(1):113-121.
83. [Liu Y.](#), [Wang P.S.](#), [Xie D.](#), [Liu K.](#), [Chen L.](#) *Ghrelin reduces injury of hippocampal neurons in a rat model of cerebral ischemia/reperfusion* *Chin J Physiol* 2006; 49(5):244-250.
84. [Wu R.](#), [Dong W.](#), [Zhou M.](#), [Zhang F.](#), [Marini C.P.](#), [Ravikumar T.S.](#), [Wang P.](#) *Ghrelin attenuates sepsis-induced acute lung injury and mortality in rats* *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 176(8):805-813.
85. [Demiński A.](#), [Warzecha Z.](#), [Ceranowicz P.](#), [Cieszkowski J.](#), [Pawlik W.W.](#), [Tomaszewska R.](#), [Kuśnierz-Cabala B.](#), [Naskalski J.W.](#), [Kuwahara A.](#), [Kato I.](#) *Role of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the protective effect of*

- ghrelin in ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis* [Growth Hormon IGF Research](#) 2006; 16(5-6):348-356.
86. [Sibilia V.](#), [Rindi G.](#), [Pagani F.](#), [Rapetti D.](#), [Locatelli V.](#), [Torsello A.](#), [Campanini N.](#), [Deghenghi R.](#), [Netti C.](#) *Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action* [Endocrinology](#) 2003; 144(1):353-359.
87. [Wu R.](#), [Dong W.](#), [Cui X.](#), [Zhou M.](#), [Simms H.H.](#), [Ravikumar T.S.](#), [Wang P.](#) *Ghrelin down-regulates proinflammatory cytokines in sepsis through activation of the vagus nerve* [Ann. Surg.](#) 2007; 245(3):480-486.
88. [Carlsson P.O.](#), [Olsson R.](#), [Källskog O.](#), [Bodin B.](#), [Andersson A.](#), [Jansson L.](#) *Glucose-induced islet blood flow increase in rats: interaction between nervous and metabolic mediators* [Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.](#) 2002; 283(3):457-464.
89. [Xu X.F.](#), [Lou W.H.](#), [Wang D.S.](#), [Jin da Y.](#), [Ni X.L.](#), [Wu Z.H.](#) *Influence of glutamine on pancreatic blood flow and apoptosis of pancreatic acinar in rats with severe acute pancreatitis* [Chin J Dig Dis](#) 2006; 7(2):121-126.
90. Date Y., Murakami N., Toshinai K., Matsukura S., Nijima A., Matsuo H., Kangawa K., Nakazato M. *The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats* [Gastroenterology](#) 2002; 123(4):1120-1128.
91. Keceli M., Kucuk C., Sozuer E., Kerek M., Ince O., Arar M. *The effect of interleukin-10 on acute pancreatitis induced by cerulein in a rat experimental model* [J. Invest. Surg.](#) 2005; 18(1):7-12.