

# La perfusione arteriosa selettiva con antienzimi in pancreatite acuta sperimentale

Esperienza preliminare

A. MATTIOLI - R. SCORZA - F. GIORDANENGO  
A. ODERO - P. CANDIANI - P. MINGAZZINI

*Istituto di Patologia Speciale Chirurgica II  
dell'Università di Milano  
(Direttore: Prof. U. Ruberti)*

**RIASSUNTO.** — Vengono analizzati i risultati ottenuti trattando una pancreatite sperimentale con la perfusione selettiva del pancreas con antienzimi. La sperimentazione è stata eseguita su 15 cani incrocio (10-15 kg) divisi in tre gruppi: un gruppo di controllo, utilizzato per la verifica della validità del metodo di induzione della pancreatite; un gruppo trattato a 12-18 ore dall'intervento con antienzimi mediante perfusione arteriosa selettiva continua; un gruppo trattato con antienzimi per via venosa. Sono stati valutati i risultati istologici e i dati biochimici. Si ritiene che la metodica fornisca risultati terapeutici assai validi in confronto con la più comune perfusione venosa.

**PAROLE CHIAVE.** — Pancreatite acuta sperimentale - Perfusione arteriosa selettiva.

## Generalità e cenni storici

La riproduzione sperimentale su animali delle condizioni eziopatogenetiche che stanno alla base della patologia umana è uno dei mezzi più sicuri ed innocui per lo studio di tutti i problemi inerenti le malattie stesse.

Naturalmente una trasposizione integrale di tutta la problematica dall'animale all'uomo non può considerarsi attendibile se non vengono rispettate condizioni metodologiche adeguate, tali da consentire interpretazioni sufficientemente realistiche.

Per questo motivo la pancreatite acuta è una delle affezioni più largamente studiate dal punto di vista sperimentale anche se l'induzione della stessa si è dimostrata sul piano pratico di alquanto difficile realizzazione a causa di metodiche non sufficientemente precise e tali da riprodurre troppo approssimativamente le condizioni della patologia umana.

Le prime esperienze sull'argomento sono state di C. Bernard (1856) il quale, partendo dalla teoria del reflusso canalicolare o del

« canale comune secondo Opie », ipotizzò che la pancreatite acuta potesse venire indotta da un aumento della pressione nel sistema canalicolare bilio-pancreatico o duodenopancreatico; tale teoria secondo tali A. doveva trovare ovviamente un corrispettivo clinico nell'ambito della patologia umana.

Rich e Duff (1936) dimostrarono mediante iniezioni intraduttali che l'induzione sperimentale di una pancreatite non dipende tanto dal tipo di sostanza iniettata quanto alla pressione con la quale essa viene introdotta nel sistema. Essi dimostrarono che pressioni di infusione anche modeste erano in grado di provocare la rottura dei dotti intercalari con diffusione della sostanza iniettata nel contesto del parenchima. Tali osservazioni, successivamente precisate da Castrini (1964), tengono a svalutare l'importanza eziopatogenetica della teoria del « canale comune ». Parallelamente a questo gruppo di ricerche, sono stati proposti altri tipi di metodiche atte a provocare una pancreatite sperimentale. Di queste la più importante, preconizzata da Blume (1897), prevede la comparsa

di una P.A. a seguito di una ischemia da compressione dei vasi pancreatici; a sostegno di tale ipotesi Popper e coll. dimostrarono che l'ischemia è in grado di trasformare un semplice stato di edema pancreatico in una pancreatite necrotico-emorragica irreversibile. Un medesimo risultato secondo Anderson (1953) lo si può ottenere con l'interruzione del drenaggio venoso della ghiandola: questa reazione potrebbe essere inoltre accelerata da una stasi nell'ambito della microcircolazione pancreatica, mentre il mantenimento di un normale flusso ematico è considerato un importante fattore di prevenzione nello sviluppo della pancreatite necrotico-emorragica in quanto esso sarebbe in grado di prevenire l'accumulo dei prodotti tossici ad attività digestiva (Goodhead, 1969). Secondo l'A. l'impiego di soluzioni a basso peso molecolare di dextrano, di sostanze anti-trombotiche, di eparina, di trombolisina, possono servire a tale scopo, così come una denervazione simpatica post-gangliare del pancreas che, determinando una vasodilatazione distrettuale, è in grado di mantenere elevati regimi di flusso. Tutte le metodiche descritte tuttavia qualunque sia l'ipotesi patogenetica che si desidera controllare, comportano l'aggressione diretta del pancreas, del suo sistema escretore, del suo albero vascolare o del suo apparato ghiandolare mediante infusione retrograda di qual si voglia sostanza; tali tecniche pertanto tendono, seppure indirettamente, a modificare l'omeostasi pancreatica e limitano le osservazioni alle alterazioni istologiche che si instaurano immediatamente dopo la comparsa della P.A., ma non permettono una adeguata osservazione delle alterazioni vascolari e parenchimali pancreatiche che sicuramente si verificano secondo una successione temporale ben precisa. Per questo motivo Pfeffer (1957) ha ideato una particolare tecnica di non aggressione pancreatica che consiste nell'allestimento di un'ansa duodenale cieca che comprenda gli sbocchi principali e secondari del pancreas. Tale metodica si è dimostrata assai valida nel produrre costantemente una pancreatite necrotico-emorragica anche durante le prime ore dall'esperimento; essa inoltre permette di studiare il quadro morboso sperimentale pur garantendo l'integrità anatomica dell'organo, lasciando in tal modo aperta ogni possibile interpretazione eziopatogenetica e riproducendo una situazione dinamica intraduodenale che può essere talora

sovrapponibile ad alcune situazioni in patologia umana come nella « sindrome dell'ansa afferente », osservabile non raramente in soggetti gastroresecati secondo la tecnica di Billroth II.

Utilizzando tale tecnica con le semplificazioni proposte da Galletti e coll. nel 1967, scopo di questa ricerca è stato quello di condurre uno studio sperimentale sul cane per saggiare, mediante osservazioni bio-umorali, anatomo-istopatologiche e cliniche l'efficacia del trattamento con antienzimi inibitori delle proteasi, trattamento applicato secondo metodiche e vie di somministrazione differenti, che verranno illustrate più oltre.

#### **Note anatomiche e fisiologiche del pancreas di cane**

Il pancreas del cane è una ghiandola lobulata di forma allungata pressoché ad L, di colorito grigio-rosato, situata intraperitonealmente nella parte dorsale delle logge epigastrica e mesogastrica, posteroinferiormente allo stomaco e al duodeno. Come nell'uomo è costituita da una parte esocrina preponderante e da una parte endocrina in essa disseminata sotto forma di isolotti cellulari (isole di Langerhans). L'organo si può sommariamente dividere in un lobo destro e un lobo sinistro, detti anche code, uniti ad angolo da una parte centrale o corpo. Il lobo destro (che corrisponde nell'uomo alla testa del pancreas) si allunga per 7-15 cm dal 9° spazio intercostale alla IV vertebra lombare ed è situato nel mesoduodeno in stretto contatto con la faccia dorsale del viscere con il quale scambia una ricca rete vascolare. La parte distale è alloggiata nel grasso periureterale ed è in rapporto con il rene destro e con il colon destro. A livello del piloro il corpo si continua nel lobo sinistro (o coda propriamente detta) che giace in uno sdoppiamento della parte posteriore del grande omento. La faccia dorsale del lobo sinistro è in rapporto medialmente col processo caudato del fegato, con la vena cava, con la porta e con l'aorta. Distalmente l'apice della coda è in contatto con il rene sinistro e l'ilo della milza. La faccia ventrale del lobo sinistro è in rapporto con la parete posteriore dello stomaco e del colon trasverso. Sebbene nell'animale adulto non siano riconoscibili i limiti anatomici dei due lobi che sono fusi assieme, un vestigio rimane dimo-

strato dalla presenza di due dotti pancreatici ben distinti e fra loro intercomunicanti. Il dotto pancreatico ventrale drena la parte destra della ghiandola; il dotto pancreatico dorsale drena la restante porzione di corpo e coda sinistra. Essi possono sboccare nel duodeno separatamente o uniti, associati o indipendenti al coledoco. Numerose sono le variazioni anatomiche del sistema canalicolare biliopancreatico del cane: esse sono tuttavia argomento di anatomia ed anatomia comparata, il cui approfondimento non è essenziale ai fini di questa trattazione. I principali peduncoli arteriosi del lobo destro del pancreas sono i rami pancreatici delle arterie pancreatico-duodenale superiore, ramo dell'arteria epatica comune proveniente dal tripode celiaco e pancreatico-duodenale inferiore, con cui si anastomizza a pieno canale, secondo ramo della mesenterica superiore. La porzione sinistra del pancreas è vascularizzata da numerosi rami brevi provenienti dall'arteria splenica, dall'epatica comune e dalla gastroduodenale, rami del tripode celiaco.

La *vascularizzazione lobulare* intraparenchimale è costituita da arterie principali che percorrono il lobulo secondo il maggior asse; da esse si distaccano ad angolo retto rami arteriosi secondari che penetrano a loro volta nel contesto del lobo pancreatico dividendosi successivamente in due rami terziari.

Come è noto il *pancreas del cane* è, dal punto di vista istologico, estremamente affine al *pancreas umano*; esso è pertanto costituito da una componente esocrina in forma di ghiandole tubulo-acinose complesse il cui secreto viene drenato attraverso piccoli collettori intralobulari verso i dotti lobulari; da essi prendono origine i dotti lobari principali che sboccano infine nel dotto pancreatico principale e in uno o più dotti accessori i quali sfociano in duodeno unitamente o separatamente dalla via biliare principale.

L'epitelio ghiandolare esocrino è costituito prevalentemente da elementi cellulari cilindrici o cubici, il cui citoplasma è provvisto di fini granulazioni, debolmente eosinofile, che conferiscono alle cellule un aspetto chiaro, secondo le caratteristiche delle ghiandole sierose. Alcuni acini al contrario presentano citoplasmici maggiormente tingibili provvisti di piccole vescicole che, con particolari tecniche tintoriali elettive risultano essere composte da mucina come secondo la struttura delle ghiandole mucose. La componente endo-

crina è rappresentata da isolotti cellulari ben distinguibili dal circostante parenchima ghiandolare esocrino e organizzati in strutture cordonali variamente intersecate da una rete capillare sinusoidale: il complesso di questo intreccio citovascolare prende la denominazione di isole di Langerhans che costituiscono l'unità morfo-funzionale del pancreas endocrino.

Le isole hanno solitamente forma rotondeggiante e diametro variabile da 1/15 a 1/3 di mm; sono rivestite da una sottilissima capsula connettivale che le separa dal tessuto pancreatico esocrino e si confonde esternamente con il connettivo interstiziale di questo. Le cellule delle isole pancreatiche sono più piccole delle cellule ghiandolari esocrine, sono di forma poliedrica ed hanno nel citoplasma minute granulazioni; esse vengono distinte nei tre tipi fondamentali A, B, D.

Le cellule B sono rappresentate per il 70 % e ad esse spetta l'elaborazione dell'insulina; le cellule A, produttrici di glucagone, sono circa il 20 %; il restante 10% è rappresentato dalle cellule D, la cui funzione non è nota. Nelle isole pancreatiche il tessuto connettivo reticolare avvolge il sistema dei cordoni epiteliali e quello dei vasi sanguiferi. La delimitazione delle cellule non è mai completa ed assoluta: ciò è spiegabile se si pensa all'istogenesi delle isole che avviene per differenziazione secondaria di un abbozzo dapprima unico per la parte endocrina e per la parte esocrina.

Da un punto di vista patologico l'esplorazione funzionale del pancreas del cane si fonda, come nell'uomo, sulla valutazione dell'amilasemia e dell'amilasuria, tenendo conto che nel cane tali valori subiscono notevoli variazioni a seconda del metodo impiegato da un animale all'altro per cui appare più indagine e, in conclusione, meno attendibile l'esatta valutazione dell'induzione e della progressione della malattia riferita ai soli dati biochimici; è utile inoltre precisare che secondo recenti ricerche di Delcourt e coll. (1968) esisterebbe un'elevata soglia renale per l'enzima e quindi una bassa clearance, cosicché il dosaggio dell'amilasuria nella patologia sperimentale, in presenza di amilasemie molto elevate non può essere considerato come parametro attendibile e probativo ai fini di una corretta interpretazione dei fenomeni indotti. Anche gli altri valori ematochimici standard (elettroliti, glicemia, azotemia, transaminasi, lipasi, ecc.) sono assai

simili a quelli rilevati nell'uomo, ma soggetti a maggior variabilità da un animale all'altro.

È pertanto opportuno ed universalmente accettato effettuare prelievi campione da ogni singolo animale prima dell'inizio della sperimentazione considerando normali tali valori e valutando le variazioni ottenute nel corso della sperimentazione come variazioni percentuali rispetto ai valori *basali*.

#### **Modificazioni anatomico-patologiche e fisiopatologia della pancreatite acuta sperimentale**

A quattro ore di distanza dall'induzione della P.A. mediante ansa duodenale esclusa (Galletti) l'aspetto macroscopico del pancreas appare del tutto normale sia dal punto di vista della sua colorazione che dal punto di vista della consistenza. L'ansa duodenale si presenta distesa ma di colorito del tutto normale. Il sistema vascolare pancreatico studiato mediante esami arteriografici intraoperatori dimostra una discreta dilatazione delle arterie interlobulari mentre le arteriole intralobulari assumono un andamento tortuoso con mancata visualizzazione delle loro più fini diramazioni, sede di fenomeni di spasmo o di compressione. Istologicamente la caratteristica fondamentale di tale stadio è rappresentata da un modesto stato di edema interstiziale senza modificazioni rilevanti a carico delle strutture ghiandolari. La rete capillare presente nel tessuto interstiziale subisce progressivi fenomeni di dilatazione e di deformazione.

A dodici ore di distanza l'esplorazione della cavità peritoneale mette in evidenza la presenza di una discreta quantità di ascite con un pancreas di aspetto decisamente edematoso e normocromico. L'ansa duodenale oltre che distesa assume un colorito brunoastro ed intensamente cianotico. Si osservano inoltre iniziali modificazioni del sistema arterioso ed arteriolare sotto forma di deformazioni e contratture della parete vascolare. Istologicamente le cellule dell'epitelio ghiandolare presentano diffusi e marcati segni di rigonfiamento torbido con notevole aumento degli spazi interstiziali occupati da una sostanza amorfa con le caratteristiche istochimiche delle proteine plasmatiche; in essa si possono sovente reperire elementi cellulari sparsi provenienti dagli epitelii ghiandolari e con evidenti note involutive. A diciotto ore

la cavità peritoneale è massivamente occupata da un abbondante quantità di liquido serio-ematico; l'ansa duodenale appare distesa a gradi estremi, sede di evidenti turbe trofiche mentre il pancreas, assai edematoso ed estremamente friabile, presenta evidenti fenomeni emorragici sottocapsulari. Microscopicamente diventa indaginoso il reperimento di una qualsiasi struttura vascolare intralobulare mentre gli spazi interstiziali sono abbondantemente occupati da materiale ematico stravasato; la struttura acinosa delle ghiandole pancreatiche è praticamente irrisconoscibile e sostituita da ampie zone necrotiche i cui detriti cellulari sono altresì riconoscibili all'interno dei dotti principali. Tali dotti sono disomogeneamente rappresentati, ora sovradistesi ma con parete integra, ora profondamente modificati e sede di microperforazioni nei punti ove la loro membrana mucosa appare maggiormente alterata e distrutta. È questo il quadro anatomico-patologico della pancreatite necrotico emorragica.

Dalla descrizione delle modificazioni anatomicopatologiche osservabili nella pancreatite acuta sperimentale si può desumere che inizialmente prevalgono fenomeni infiammatori a carico dell'interstizio: tali fenomeni non comportano ovviamente una eziologia batterica dell'affezione, evenienza peraltro assai rara, ma sono da ricercarsi in momenti irritativi evidentemente ascrivibili alla stasi endocanalicolare indotta, i cui effetti si manifestano primitivamente sul sistema vasculoconnettivale dell'organo stesso. Lo stato di edema pancreatico viene interpretato da Redaelli, Opie e Menkins come una sorta di tesaurosi idroenzimatica in virtù della quale la ghiandola si imbibisce di un liquido sieroso contenente enzimi pancreatici inattivati in essa diluiti. Prevalgono pertanto in tale stadio i fenomeni meccanici su quelli enzimatici con dissociazione dei lobuli e degli acini tra di loro, con compressioni vascolari per mezzo delle quali sono possibili turbe trofiche e fenomeni di stasi venosa che a loro volta accentuano lo stato di edema; il trasudamento stesso di liquido sia negli spazi retroperitoneali che nella cavità peritoneale, da riferirsi all'accentuazione dei fenomeni meccanici sopra descritti (Castiglioni, 1964) avviene il più delle volte in maniera assai rapida e tale da essere causa di ipovolimie acute con conseguenti collassi cardiocircolatori.

Osservazioni sull'argomento di Elliot

(1957), Keith (1954) e Castiglioni (1964) indicano come fino dalle prime ore dall'insorgenza della pancreatite si abbiano riduzioni della volemia assai cospicue che sperimentalmente sono state calcolate intorno al 20-25 % tra la 4<sup>a</sup> e la 6<sup>a</sup> ora rispetto alla massa circolante primitiva. In concomitanza dell'edema pancreatico è stata rilevata la presenza di un aumento della concentrazione di istamina sia nel tessuto interstiziale della ghiandola, sia nel sangue circolante (Bernard, 1961): l'istamina verrebbe liberata dalla tripsina riversatasi nell'interstizio ghiandolare: la diluizione dell'enzima nel trasudato formato ad opera dell'istamina determinerebbe secondo Weiss e coll. una parziale inattivazione dello stesso con attenuazione e talora spegnimento dell'attività triptica: si realizzerebbe in tal caso un processo di auto difesa capace di far regredire il quadro.

L'edema pancreatico può non raramente trasformarsi in una pancreatite necrotico-emorragica in virtù della liberazione da parte di una ghiandola in evidenti condizioni trofiche compromesse di un attivatore enzimatico in grado di innescare gli enzimi proteolitici presenti nei liquidi interstiziali (Popper, 1948).

Secondo più recenti studi di Neurath (1962) l'autodigestione della ghiandola si compie da parte dei suoi enzimi proteolitici associati in un potente complesso enzimatico evidenziato dall'A. mediante indagini cromatografiche su omogenati di pancreas.

In conclusione si tratterebbe, sia nel caso dell'edema pancreatico che della pancreatite necrotico-emorragica, di due diverse forme di enzimopatie acquisite: nell'edema l'enzimopatia è semplice o potenziale per cui gli enzimi presenti nell'interstizio non esplicano se non in minima parte la loro azione litica; nella pancreatite necrotico-emorragica esiste invece una tossiemia enzimatica ad impronta proteolitica che agisce sia localmente sulla ghiandola sia sul circolo ove la concentrazione è particolarmente elevata, sia sui diversi organi con evidenti conseguenze di ordine generale, quali alterazioni dell'emocoagulazione, dell'equilibrio acido-base, insufficienza epato-renale, shock ed encefalopatie.

### Gli inibitori enzimatici

È ormai affermato e consolidato da anni l'uso di farmaci antiproteasici nel trattamento delle pancreatiti sia in sede sperimentale

che clinica. Tali farmaci neutralizzano l'attività proteolitica del tessuto e dei succhi pancreatici. Blummel e Piza nel 1966 dimostrarono infatti, mediante l'uso di piastre di fibrina riscaldate, che la proteolisi veniva totalmente inibita ad opera dell'*inibitore della callicreina*, il quale prende la denominazione commerciale di Trasylol.

Tale sostanza, la cui presenza venne per la prima volta accertata nel 1930 da Kraus, Frey e Werl è un *polipeptide basico con peso molecolare di 6512 costituito da una catena formata da 58 aminoacidi appartenenti a 16 diversi tipi*.

Essa va sotto la denominazione chimica abbreviata di *Aprotinina* e viene estratta dalla parotide dei bovini. Il Trasylol è elettivamente inibitore della callicreina ma è altresì più genericamente inibitore delle proteinasi. Gli enzimi proteolitici che possono venire inibiti mediante il Trasylol esplicano oltre all'azione proteolitica anche un'attività esterolitica: al gruppo di queste esteroproteinasi appartengono le chininogenasi, la tripsina, la chimotripsina, la plasmina, l'attivatore della plasmina ed i fattori plasmatici che intervengono nella prima fase del processo della coagulazione. Esso viene dosato in unità inattivanti di callicreina intendendosi per unità la quantità di inibitore che in condizioni ottimali dimezza l'attività di due unità biologiche di callicreina. In tempi più recenti Kunitz e Nortrop hanno estratto dal pancreas un polipeptide, cui è stato dato il nome commerciale di Iniprol, che possiede le stesse proprietà del fattore di Frey e Werl, ma sembra essere da 10 a 15 volte più attivo, sebbene solamente il secondo abbia azione sulle  $\beta$ -amilasi. Sono di recente impiego altri farmaci maggiormente purificati e quindi più selettivi e meglio tollerati i cui meccanismi di azione sono tuttavia del tutto sovrapponibili a quelli del Trasylol. Oltre ai prodotti menzionati, si riconoscono altri fattori di origine animale, vegetale o chimica, che non possedendo però i necessari requisiti di innocuità e tollerabilità, sono stati utilizzati solo in via sperimentale, ed in seguito abbandonati.

### Meccanismo d'azione

L'inibizione dell'attività enzimatica si realizza a seguito di un legame che la porzione della molecola di inibitore, dotata di azione inattivante, contrae con il centro attivo del

rispettivo enzima antagonista; si forma pertanto un complesso inattivo enzima-inibitore nel quale le due frazioni sono presenti nel rapporto I:I. Il legame del complesso è comunque reversibile. Sui risultati terapeutici dei farmaci antiproteasici Stefanini e Carboni hanno riferito esaurientemente al 66° Congresso della Società Italiana di Chirurgia, facendo al proposito un'accurata revisione della letteratura. Le ricerche di Forell e Dobovicnik hanno chiaramente dimostrato che per mezzo dell'inattivatore della callicreina, in ratti con pancreatite sperimentale, si ottiene una riduzione dell'edema e del versamento peritoneale, costantemente osservato quest'ultimo negli animali non trattati. A conferma di questi rilievi gli A. hanno dosato il tasso di tripsina e di tripsinogeno contenuto nel tessuto ghiandolare degli animali da esperimento.

Altrettanto dimostrativi sono i risultati sperimentali di Bernard e coll. che ottengono, come essi stessi asseriscono, la prova anatomica e biologica dell'efficacia degli inibitori. La prima è fornita dall'osservazione che lesioni pancreatiche emorragiche non recenti regrediscono nel cane nel giro di quattro giorni con la somministrazione dell'inattivatore. Inoltre l'iniezione sottocapsulare e nello spazio retroperitoneale di inibitori o di un miscuglio di questi con dosi maggiori di tripsina, non provoca alterazioni di sorta, né le tipiche manifestazioni necrotico-emorragiche indotte dalla tripsina. Da questa constatazione deriva la prospettiva pratica di un trattamento topico antiproteasico. La prova biochimica dell'efficacia del farmaco è infine fornita dal comportamento dei livelli amilasemico e glicemico in animali trattati con antitriptici dopo induzione di una pancreatite acuta. Tali reperti umorali sono risultati assai meno compromessi di quelli riscontrati in animali di controllo non trattati con antitriptici. Sempre con lo stesso intento altre ricerche sperimentali, anche in scimmie Rhesus (Mc Hardy e coll.) dimostrano il reale beneficio di queste sostanze nell'arrestare e nel contenere l'evoluzione generale e locale della pancreatite acuta.

Dai risultati della sperimentazione sull'uso degli inibitori proteasici si può pertanto desumere che essi costituiscono un mezzo terapeutico insostituibile nel trattamento della P.A.

### Modalità di trattamento e principali vie di somministrazione

Un appropriato trattamento della pancreatite acuta deve fondarsi sulla neutralizzazione di tutti i fattori causali noti, siano essi predisponenti o determinanti, ma soprattutto consiste nell'inattivare il più precocemente possibile l'attività proteolitica degli enzimi triptici di provenienza pancreatica. Gli inibitori delle proteasi infatti permettono di interrompere i processi auto-digestivi intravitali che sono alla base della malattia stessa, agendo pertanto in senso strettamente patogenetico: essi bloccano la tripsina e la chimotripsina che sono gli enzimi maggiormente responsabili sia delle lesioni pancreatiche sia della tossiemia enzimatica: come già detto precedentemente (Bel, 1962) tali sostanze agiscono per neutralizzazione enzimatica con formazione di composti inattivi, per inibizione da competizione o per attivazione ed aumento del tasso degli inibitori naturali. Nel corso degli anni che hanno seguito la scoperta dei farmaci antiproteasici sono state sperimentate da diversi A. le vie di somministrazione più svariate alla ricerca del miglior utilizzo dei farmaci stessi e nel tentativo di esaltarne le proprietà terapeutiche. La via maggiormente sperimentata di cui si abbia notizia in letteratura è senza dubbio la *via endovenosa*; Morgan nel 1967 poté dimostrare che l'infusione endovenosa di Trasylol era in grado di ridurre la concentrazione di tripsina nel succo pancreatico opportunamente prelevato dal duodeno e drenato all'esterno; Thompson nel 1968 dimostrò un'ottima risposta nel controllo della P.A. sperimentale alla somministrazione di inattivatori delle proteinasi e della callicreina così come Mc Hardy nel 1968 arrivò alle medesime conclusioni attraverso uno studio anatomo-istologico relativo alla P.A. sperimentale nel cane prima e dopo trattamento endovenoso con Trasylol. Lo stesso A. sperimentò con successo l'uso di tale farmaco *applicato localmente sul pancreas e nel retroperitoneo*, dimostrando istologicamente un'attenuazione delle lesioni tipiche della P.A. e mettendo in evidenza la tendenza alla cronicizzazione del processo. Una variante della somministrazione topica di farmaci antiproteasici è rappresentata dall'*infusione endoarteriosa* di Trasylol descritta per la prima volta da Grözinger nel 1965, il quale utilizzò l'arteria pancreatico-duodenale superiore del

cane. Il metodo venne successivamente ripreso nel 1966 da Nugent il quale perforava il pancreas mediante un piccolo catetere introdotto nell'arteria gastrica sinistra fino alla sua origine nel tripode celiaco. Tale via di somministrazione come abbiamo detto può considerarsi alla stregua di un trattamento locale « mirato » in quanto il farmaco ha in tal modo la possibilità di diffondersi localmente ed elettivamente attraverso le più fini diramazioni vascolari nel contesto della ghiandola. I risultati ottenuti da Nugent testimoniano dell'efficacia del metodo in quanto l'A. dimostrò una netta inversione di tendenza alla progressione della pancreatite ottenendo una sopravvivenza dell'82,4 % negli animali trattati contro il 16,7 % di sopravvivenza negli animali di controllo.

I dosaggi impiegati dai diversi A. sono stati assai vari: da un esame della letteratura tuttavia si constata un progressivo aumento delle quantità di farmaco impiegate, essendosi rilevata l'assoluta innocuità ed assenza di tossicità del farmaco, associate ad un'efficacia direttamente proporzionale ai dosaggi.

In pratica vale l'affermazione di Castiglioni (1964) il quale sostiene che la sperimentazione suggerisce l'opportunità di una somministrazione precoce, a dosaggi estremamente alti, mediante perfusione continua o a brevi intervalli di tempo. Occorre peraltro rilevare che esiste tra i vari A. un generale accordo circa l'efficacia di questi farmaci qualunque sia stata la via di somministrazione da essi sperimentata; considerando infatti che nella P.A. la concentrazione di tripsina risulta elevata sia a livello del parenchima pancreatico, sia, seppure più tardivamente, nel sangue circolante, le varie vie di somministrazione appaiono ugualmente efficaci ove l'antienzima possa comunque raggiungere la tripsina. Considerando tuttavia che le proteasi vengono prodotte e immagazzinate nel pancreas, sembrerebbe più vantaggioso inattivarle localmente ed il più precocemente possibile onde evitare i danni della tossiemia enzimatica; per questo motivo, almeno in linea teorica, sembrerebbe più opportuno, non solo da un punto di vista della sperimentazione ma soprattutto da un punto di vista clinico, una via di somministrazione più selettiva quale la via intra-arteriosa. Come vedremo più avanti l'esecuzione pratica di tale modalità non è così agevole, anche se i risultati sperimentali ottenuti incoraggiano indubbiamente in questo senso.

### Esperienza personale

Se, come precedentemente riferito, le esperienze di Nugent appaiono estremamente suggestive, occorre tuttavia tener presente che il modello sperimentale dell'A. non ricalca a nostro avviso quella che è la realtà clinica della P.A. nell'uomo. L'A., infatti, all'atto dell'induzione sperimentale iniziava la perfusione intraarteriosa di Trasylol protratta per 30 ore. Senza porre in discussione i brillanti risultati ottenuti non si può non tener conto che, nella realtà, il lasso di tempo intercorrente tra l'inizio della pancreatite, la corretta diagnosi ed un seppur tempestivo trattamento, è estremamente più ampio.

In base a queste considerazioni lo scopo della nostra ricerca è pertanto quello di dimostrare l'efficacia del trattamento della P.A. sperimentale con antienzimi, la cui somministrazione avvenga dopo un ragionevole lasso di tempo dall'esordio dell'affezione, secondo un modello sperimentale che ci sembra più aderente alla realtà clinica.

### Materiale e metodi

Abbiamo scelto il cane come animale da esperimento in quanto il suo pancreas possiede una struttura microanatomica « grosso modo » corrispondente a quella dell'uomo sia per quanto riguarda la struttura ghiandolare, sia per quanto riguarda la disposizione e l'architettura istologica dell'apparato duttale intra ed extra ghiandolare. Inoltre la risposta agli stimoli pancreo-lesivi è nel cane sufficientemente omogenea e sovrapponibile a quanto avviene nell'uomo; i livelli enzimatici, infine, sono nel cane sufficientemente omogenei e tali da poter essere considerati con sufficiente attendibilità nel corso di una sperimentazione.

Abbiamo usato per l'induzione della pancreatite, la tecnica di Pfeffer modificata da Galletti in quanto a nostro avviso risulta la più idonea a fornire quadri patologici uniformi e quindi più adatti ad una migliore standardizzazione delle varie fasi della ricerca. Tale tecnica inoltre riproduce condizioni patogenetiche che nell'uomo possono indurre pancreatiti secondarie, quali la sindrome dell'ansa afferente dopo gastrotomia, ostruzioni di qualsivoglia natura del coledoco terminale, stenosi duodenale. Il metodo di Galletti inoltre, già descritto prece-

dentemente, consente di conservare l'integrità del pancreas senza fare ricorso ad una perfusione di sostanze per via endocanalicolare ai fini di una migliore osservazione e valutazione istopatologica del processo pancreatico, non falsata da traumatismi indotti meccanicamente.

La nostra ricerca è stata condotta su un gruppo di 15 cani incrocio, il cui peso è variato da 10 a 15 kg; gli stessi animali, una volta accertata l'avvenuta induzione della pancreatite mediante l'analisi dei dati amilasemici e la visione diretta del pancreas, sono stati suddivisi in tre gruppi a seconda della particolare via di infusione dell'antienzima e pertanto:

— il *primo gruppo* è stato utilizzato per la verifica della validità del metodo di induzione della pancreatite;

— il *secondo gruppo* è stato trattato a 12-18 ore dall'intervento mediante perfusione endoarteriosa di antienzimi; ciò è stato realizzato con incannulamento dell'arteria splenica con un catetere di polietilene, collegato ad una pompa di perfusione, la cui velocità è stata impostata a valori tali da consentire la somministrazione di 30.000 U.I./kg di peso diluita in un tempo di circa 6 ore;

— il *terzo gruppo* ha ricevuto un trattamento con antienzimi per via endovenosa.

L'anestesia degli animali è stata condotta mediante induzione primitiva con Ketalar al dosaggio di 2 mg/kg di peso intramuscolo e secondaria con Pentotal al dosaggio di 2 mg/kg endovena; si è quindi proceduto all'intubazione endotracheale dei cani ed alla somministrazione di O<sub>2</sub> e Protossido di Azoto in proporzioni adeguate; la ventilazione è stata mantenuta spontanea o parzialmente assistita. Si è decisamente escluso l'impiego di farmaci come la morfina e la succinilcolina in quanto dotati di effetti negativi su questa specie animale: la prima infatti determina fenomeni antiperistaltici con esito in vomito, la seconda provoca gravi stati ipotensivi e tali da condizionare la sopravvivenza. L'intervento chirurgico si è svolto in due fasi distinte:

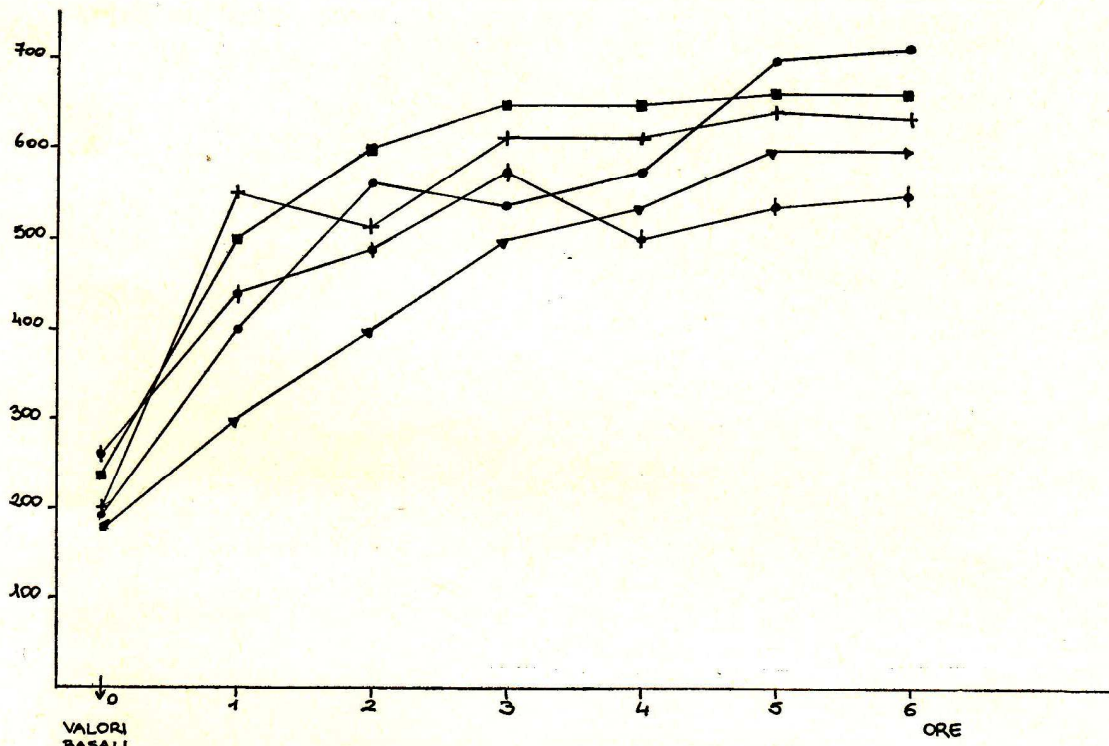
A) Attraverso una laparotomia mediana xifo-pubica si è isolata l'ansa duodenale per tutta la sua lunghezza e vi sono stati applicati due robusti lacci, uno a monte in corrispondenza del piloro e uno a valle a circa 15 cm di distanza, in modo da comprendere sicuramente nell'ansa esclusa lo sbocco del

coledoco, del dotto pancreatico principale e degli accessori.

Si è quindi proceduto, previo isolamento del primo tratto del digiuno e suo passaggio attraverso una breccia mesocolica, alla creazione di una gastrodigiunostomia latero-laterale antiperistaltica: il ripristino della continuità intestinale permette di evitare nell'immediato decorso post-operatorio gli imponenti ristagni da stenosi pilorica, fenomeni antiperistaltici (vomito) e manifestazioni cliniche addominali che sovrappoendosi alla sintomatologia della pancreatite acuta ne falserebbero il quadro. La metodica della gastro-entero-anastomosi d'appoggio ci sembra inoltre da preferirsi alla fistola gastrica esterna, accorgimento quest'ultimo che, seppure ottiene i medesimi risultati pratici della gastrodigiuno-stomia, non è obiettivamente una metodica fisiologica.

B) A distanza di 12 ore o più si è proceduto a riapertura della breccia chirurgica; si è preso atto visivamente delle lesioni prodotte a livello del pancreas e dei tessuti limitrofi con particolare riguardo al colore, alla consistenza ed al grado di imbibizione dei mesi, del retroperitoneo e di tutti gli organi attigui al pancreas; si sono quindi rimossi i lacci applicati al duodeno. A questo punto gli animali sono stati posti sotto monitoraggio strumentale continuato con ECG, con controllo della pressione arteriosa sistemica mediante incannulamento dell'arteria carotide, controllo della pressione venosa centrale. Nei 5 animali appartenenti al secondo gruppo si sono isolate e successivamente incannulate la vena porta, la vena cava e l'arteria splenica al fine di consentire i prelievi ematici orari e la somministrazione del farmaco antienzima per via arteriosa. Il farmaco (Trasyol) è stato somministrato sotto perfusione in ragione di 30.000 U.I./kg di peso diluiti in 2 flaconi di soluzione fisiologica da 500 ml per una durata di circa 6 ore. I prelievi di controllo sono stati effettuati ogni ora sul sangue portale, sul sangue periferico e sulle urine: da essi sono state tratte indicazioni circa l'andamento orario delle concentrazioni delle amilasi nel sangue e nelle urine e delle variazioni nel metabolismo dei carboidrati. Alla fine della perfusione gli animali sono stati sacrificati mediante iniezione intracardiaca di KCL 100 mEq; è stato inoltre effettuato il prelievo del pancreas, congiuntamente all'ansa duodenale, per la documentazione fotografica ed istologica.





Graf. 1. — Modificazioni dei valori di amilasemia nel gruppo di controllo dopo induzione della P.A. Vedi spiegazione nel testo.

### Considerazioni sui risultati ottenuti

La nostra sperimentazione, seppure limitata, ci ha fornito la conferma di numerosi dati già ampiamente svolti dalla letteratura sull'argomento, nonché l'opportunità di alcune importanti annotazioni, il significato delle quali verrà più oltre messo in evidenza. Anzitutto dalla nostra esperienza trova conferma il presupposto che il metodo da noi adottato è effettivamente adatto alle finalità che una sperimentazione sulla pancreatite acuta si prefigge; la metodica di Pfeffer modificata da Galletti infatti è in grado di indurre prontamente ed efficacemente uno stato pancreatico acuto senza interferire sulla integrità anatomica del pancreas: ciò è particolarmente evidente dall'analisi del grafico 1 che si riferisce al primo gruppo di animali della nostra sperimentazione. Nei cani non trattati infatti l'esclusione dell'ansa duodenale determina fin dalla prima ora, e con un andamento asintotico, un'elevazione dei valori amilasemici controllati a distanza di un'ora per 6 ore dall'induzione della pancreatite.

Tale dato biochimico, di per sé sufficiente, è stato confortato dalla constatazione anatomo-patologica delle avvenute lesioni a carico del pancreas e di tutto l'ambito sopra-mesocolico. Abbiamo infatti repertato, alla esplorazione autoptica dopo il sacrificio degli animali di questo gruppo, tutta la gamma delle lesioni macroscopiche già ampiamente descritte nella parte introduttiva: in particolare in tre animali abbiamo rilevato la presenza di un imponente edema a carico del pancreas, con una concomitante imbibizione dei mesi e dello spazio retroperitoneale ed una modesta falda ascitica; nei due rimanenti animali di questo gruppo si è evidenziato il quadro tipico anatomo-patologico della necrosi pancreatica acuta nella quale all'imponente edema pancreatico si aggiungeva un'evidente soffiatura emorragica sottocapsulare, sia un cospicuo versamento ascitico di aspetto sieroemorragico, sia una diffusa soffiatura di cosiddette gocce di cera fittamente presenti su tutte le circonvoluzioni peritoneali (fig. 1 A, B).

I prelievi biotipici effettuati su tutti gli animali di questo gruppo all'atto del rilievo

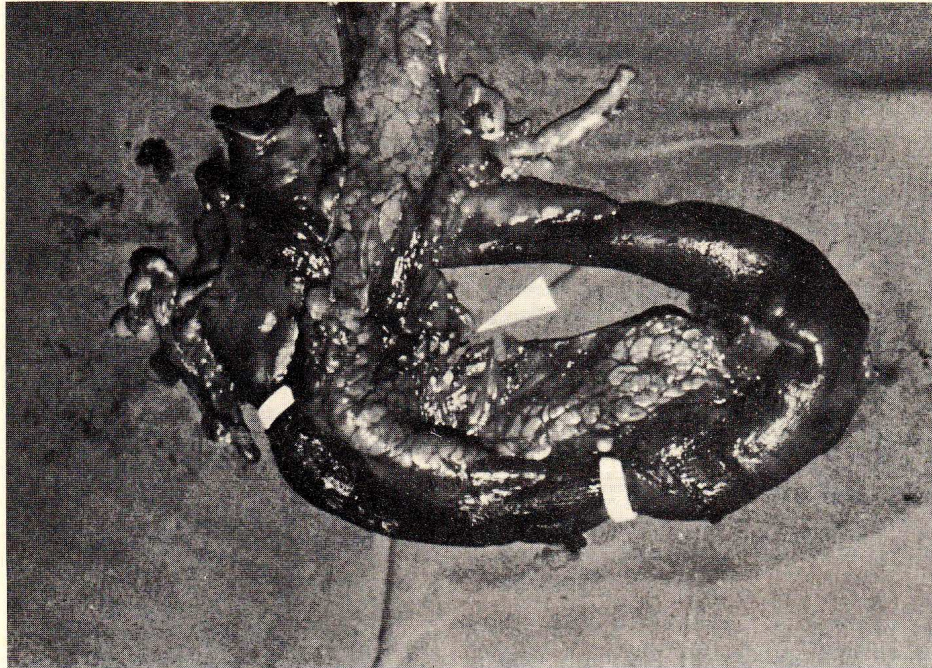


Fig. 1 A. — Preparato anatomico del blocco duodeno-pancreatico: tra le fettucce l'ansa esclusa necrotica; evidenti l'edema e la congestione del pancreas; la freccia indica aree di liponecrosi a goccia di cera.

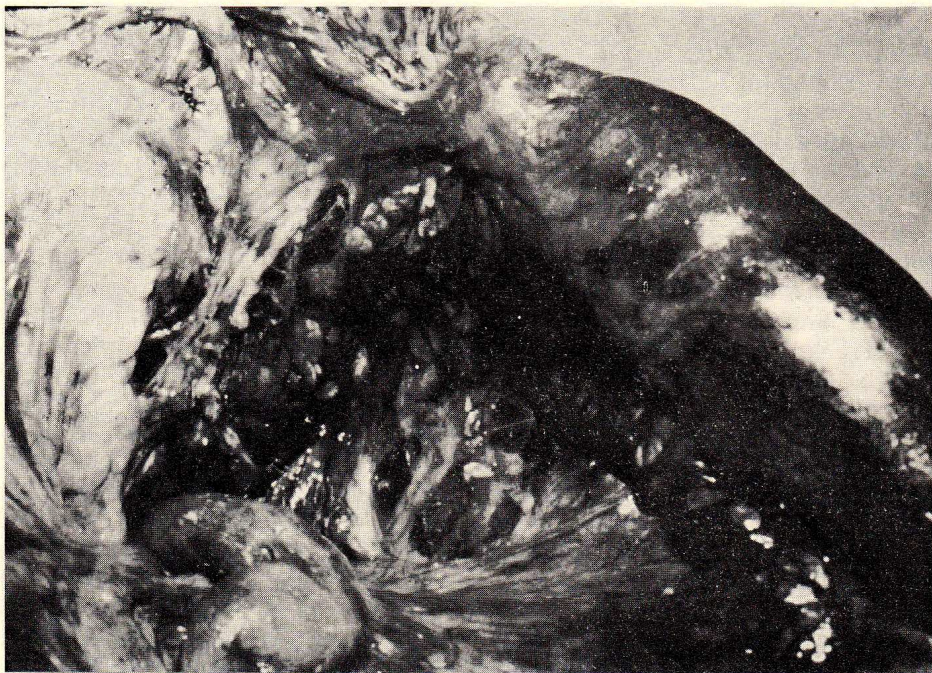


Fig. 1 B. — Particolare della precedente a più alto ingrandimento ove sono più evidenti le aree di liponecrosi.

autoptico hanno confermato il dato macroscopico circa l'ampia variabilità e l'importanza delle lesioni; abbiamo infatti osservato semplici quadri istologici di edema pan-

creatico nei quali la lesione più importante era costituita da una particolare succulenza dello stroma connettivale eventualmente associata a stravasi emorragici interstiziali di

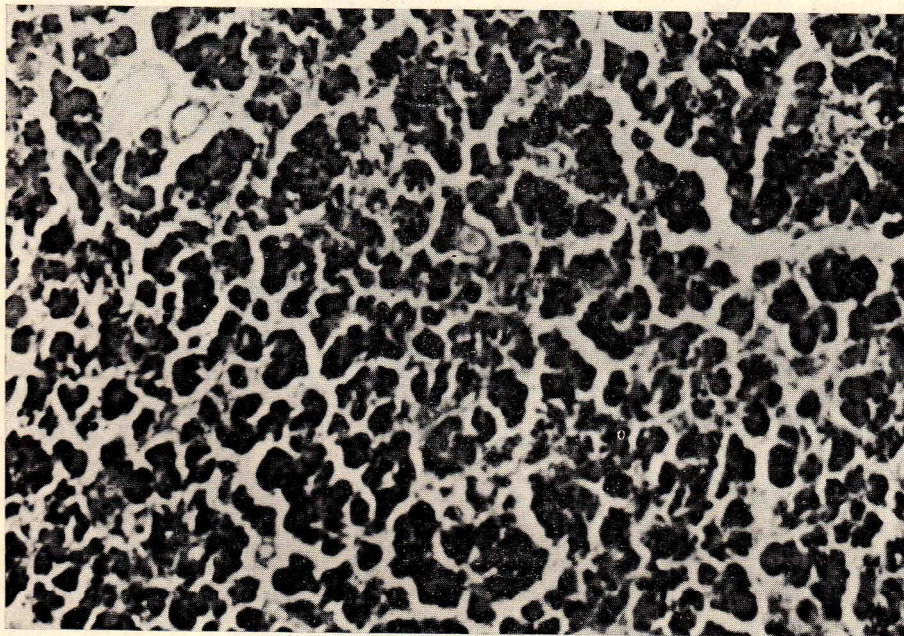


Fig. 2. — Aspetto istologico di pancreas normale.

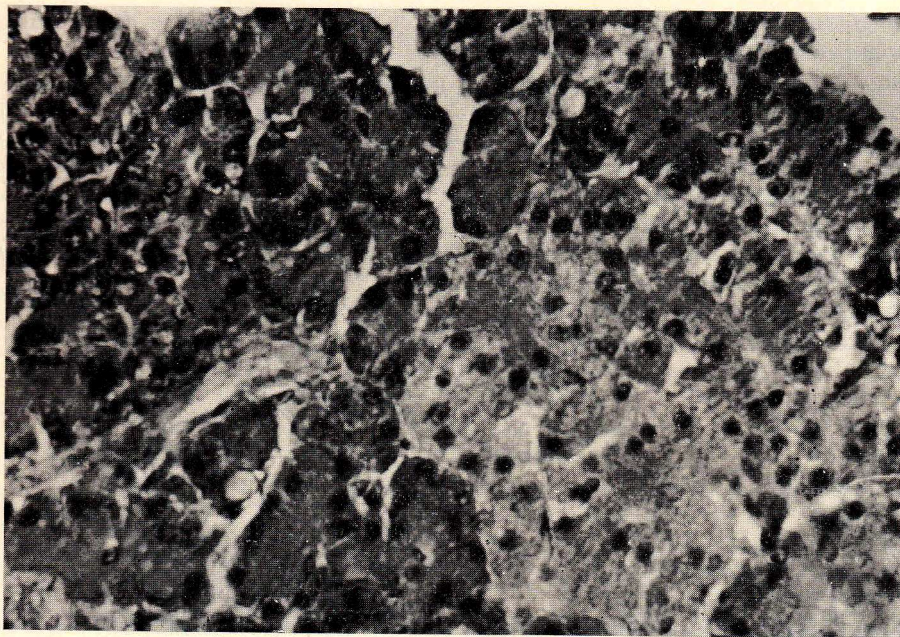


Fig. 3. — Aspetto istologico dell'edema pancreatico: occasionali quadri di rigonfiamento torbido e di degenerazione microvacuolare.

modesta entità; in questi casi il parenchima ghiandolare appariva perfettamente conservato sia nella sua struttura che nella sua costituzione cellulare (fig. 2).

Le uniche alterazioni visibili a livello cito-

plasmatico erano occasionali quadri di rigonfiamento torbido e di degenerazione microvacuolare (fig. 3).

Attraverso diversi quadri intermedi abbiamo tuttavia potuto constatare l'effettiva in-

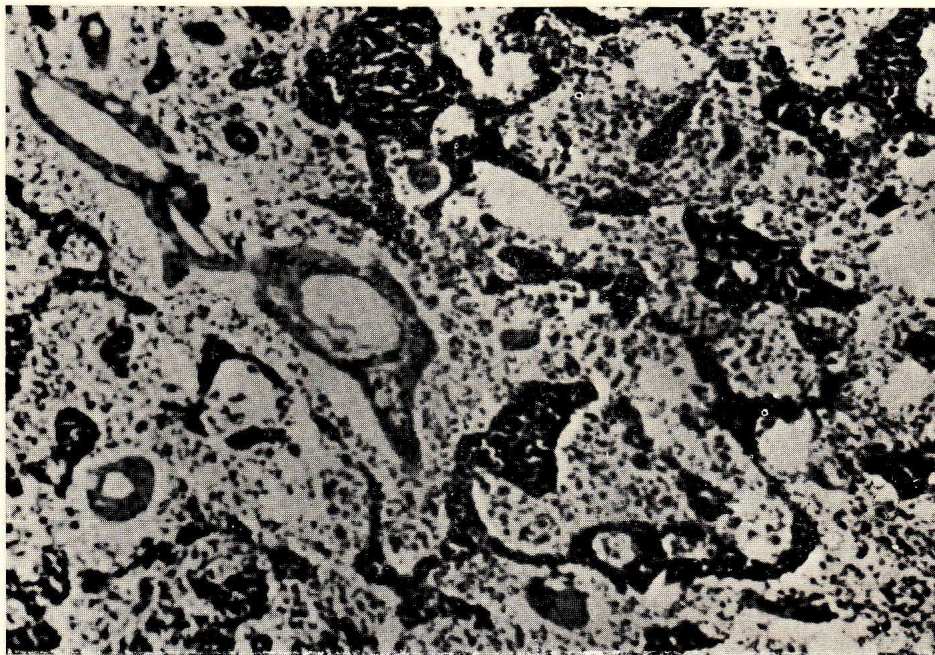


Fig. 4. — Aspetto istologico della pancreatite necrotico emorragica conclamata: totale scomparsa della struttura ghiandolare sostituita da aree emorragiche, vasti infiltrati polimorfonucleati e ampie isole di necrosi.

staurazione di una pancreatite necrotico-emorragica nei due casi nei quali già il dato macroscopico era fortemente significativo: i prelievi biotici infatti dimostrano una totale scomparsa della struttura ghiandolare pancreatica, sostituita da importanti aree emorragiche, da vasti infiltrati polimorfonucleati e da ampi isolotti sede di necrosi parenchimale (fig. 4). Come ultimo dato, conferma della sopraggiunta pancreatite, dobbiamo infine rilevare le modificazioni dei valori glicemici che, anche se in maniera non così convincente, hanno purtuttavia subito fin dalle prime ore una certa tendenza alla elevazione (grafico 2).

Venendo a considerare il secondo gruppo di animali ci sembra doveroso rilevare che per una più precisa e completa perfusione del pancreas abbiamo preliminarmente saggiato l'efficacia della perfusione attraverso i vari peduncoli arteriosi; per far ciò abbiamo introdotto sia nelle arterie pancreatico-duodenali che direttamente nel tripode, che nell'arteria splenica, del blu di metilene, in modo da poter scegliere, in base all'estensione della ghiandola perfusa dal colorante sopravvitalo, la via che offrisse insieme un'ampia possibilità di perfusione e una discreta semplicità di aggressione chirurgica.

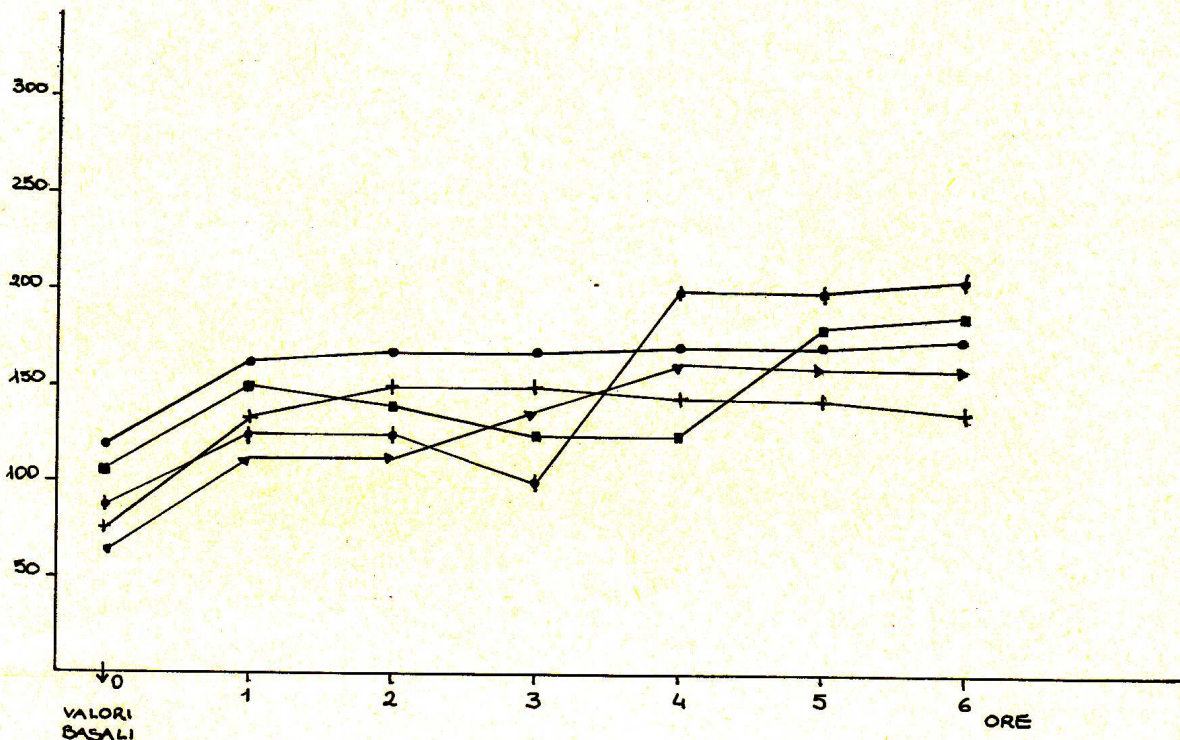
Ci è parso a proposito che l'arteria splenica meglio si prestasse al soddisfacimento

di questo compromesso. Negli animali sottoposti a perfusione del pancreas con Trasylol per via endoarteriosa abbiamo rilevato che, dopo un logico cospicuo innalzamento rispetto ai valori di base preoperatori, nelle 12-18 ore successive all'induzione della pancreatite (durante le quali non veniva effettuato nessun trattamento), l'amilasemia in quattro dei cinque animali già dopo un'ora di perfusione tendeva ad abbassarsi, giungendo alla sesta ora, con cadenze diverse, a valori, se non di normalità, appena sopraliminari (grafico 3).

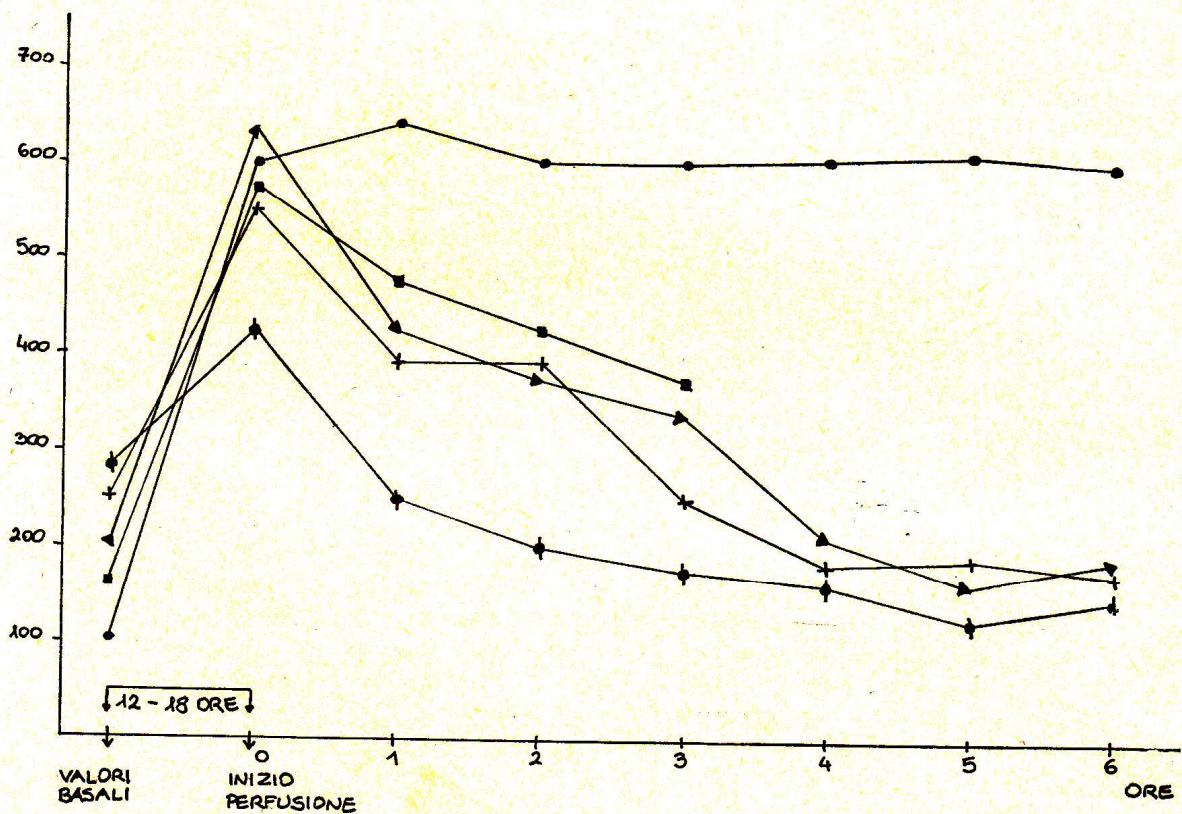
L'ultimo animale della serie, che peraltro aveva presentato lesioni anatomopatologiche di altissima gravità e praticamente irreversibili sia dal punto di vista locale che dal punto di vista generale (grave stato di shock), ha dimostrato invece di non risentire del trattamento antiproteasico alle dosi che erano state preventivamente programmate.

Si trattava evidentemente di un caso di tossiemia enzimatica nel quale la concentrazione di tripsina nel sangue era talmente elevata che il farmaco, introdotto selettivamente nel pancreas, non poteva adeguatamente antagonizzare se non la quota dislocata a livello locale.

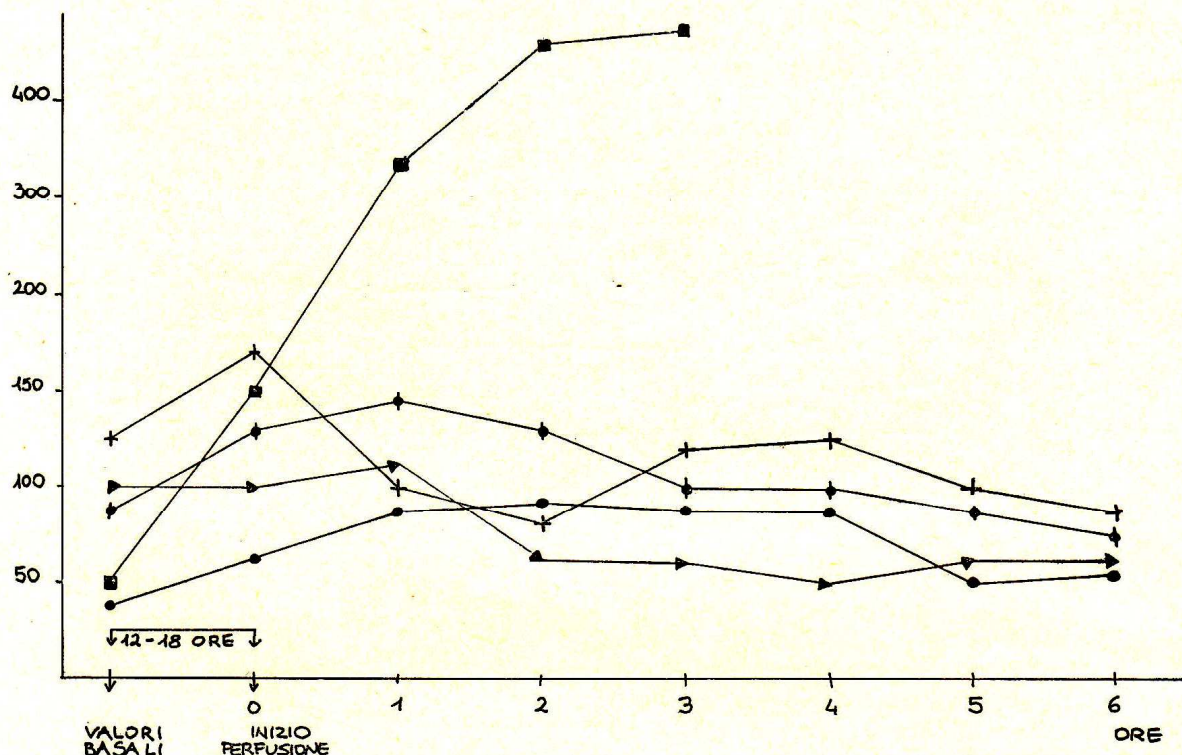
In questo caso sarebbe stato forse opportuno associare all'infusione endoarteriosa una generosa somministrazione per via pa-



Graf. 2. — Modificazioni della glicemia nel gruppo di controllo nelle prime 6 ore dopo induzione della P. A.



Graf. 3. — Comportamento dell'amilasemia durante 6 ore di infusione endoarteriosa con antienzimi (Trasyol) dopo 12-18 ore dalla induzione di P. A. Vedi spiegazione nel testo.



Graf. 4. — Comportamento della glicemia dopo 12-18 ore dalla induzione di P. A. e durante 6 ore di infusione endoarteriosa con antienzimi (Trasylo). Vedi spiegazione nel testo.

renterale, così da poter raggiungere l'enzima in tutte le sue localizzazioni.

In un altro dei cani di questo gruppo abbiamo voluto sperimentare l'effetto della somministrazione di glucosio al 10% in modo da scoprire un eventuale stato diabetico secondario alla pancreatite: in accordo con quanto affermato da Greeve e coll. nel 1973 abbiamo così potuto osservare che esiste effettivamente una diminuita tolleranza al glucosio nell'animale pancreatico, segno evidente che, anche se in condizioni normali non si rilevano importanti variazioni del tasso glicemico, un carico di glucosio è in grado di dar luogo ad una curva glicemica del tutto caratteristica di uno stato diabetico conclamato (grafico 4).

Nel nostro caso addirittura l'animale è deceduto alla terza ora di perfusione della soluzione glucosata associata al Trasylo in dose abituale, per coma iperglicemico. Nello stesso animale tuttavia, finché è stato possibile determinare l'amilasemia, l'azione dell'antienzima aveva dimostrato una buona efficacia, dal momento che la curva amilasemica tendeva a sovrapporsi nel suo andamento a quella dei restanti animali (grafico 3).

Dal punto di vista istologico è evidente che per questa parte della sperimentazione sono probanti i dati riferentisi a stati di malattia facilmente ed in breve tempo reversibili: nei due casi in cui la lesione anatomicopatologica si limitava, nonostante il tempo intercorso dal momento dell'induzione della pancreatite, ad un semplice edema ghiandolare senza lesioni necrotiche, il prelievo autoptico dopo trattamento ha dimostrato una parziale regressione dell'edema ed una diminuzione dello stravaso emorragico, con attenuazione del processo flogistico in atto (fig. 5 e 6).

La terza parte della sperimentazione si è fondata sul tentativo di un raffronto tra i risultati ottenibili con la perfusione locale intra-arteriosa di Trasylo e la somministrazione endovenosa per via generale del farmaco stesso. Le modalità cronologiche di inizio del trattamento e di dosaggio del farmaco sono state le medesime per gli animali del secondo e del terzo gruppo: la determinazione dell'amilasemia oraria ha dimostrato la buona risposta al trattamento anche per questa via, come è possibile rilevare dall'analisi del grafico 5; è tuttavia evidente, dal raffronto del grafico 5 con il grafico 3

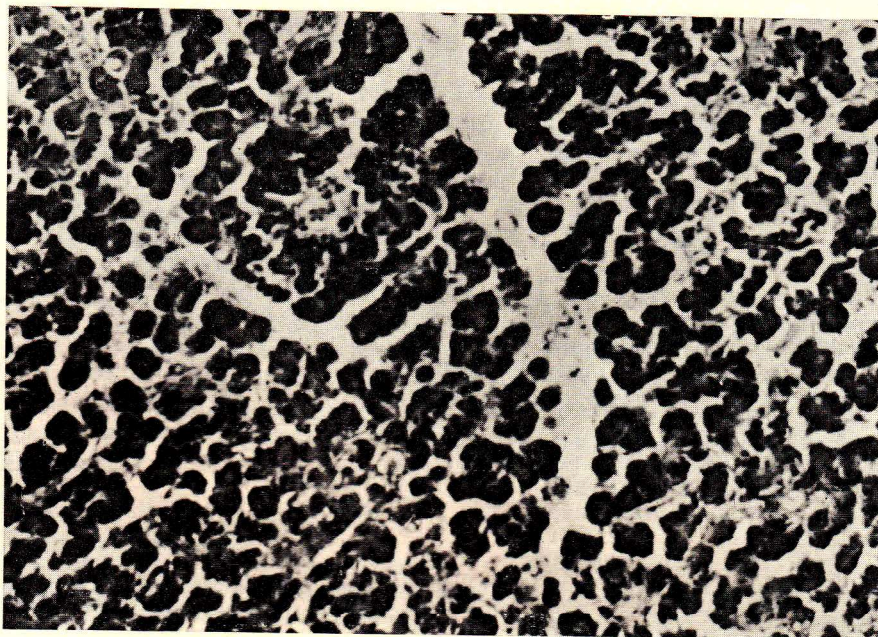


Fig. 5. — Istologia del pancreas dopo induzione della P. A. e trattamento endoarterioso con antienzimi: dissociazione acinosa per edema interstiziale con scarsi stravasi emorragici e infiltrati flogistici.

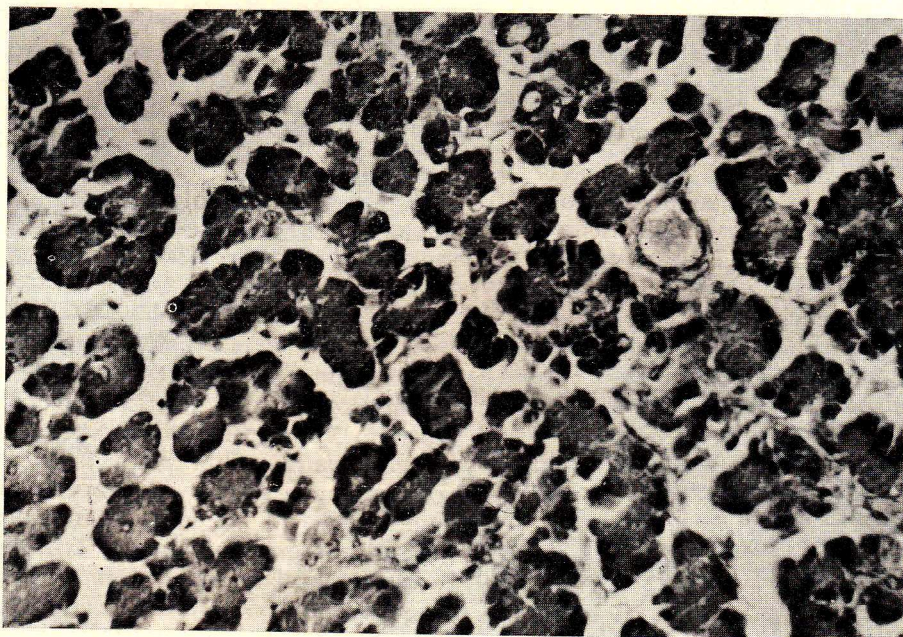
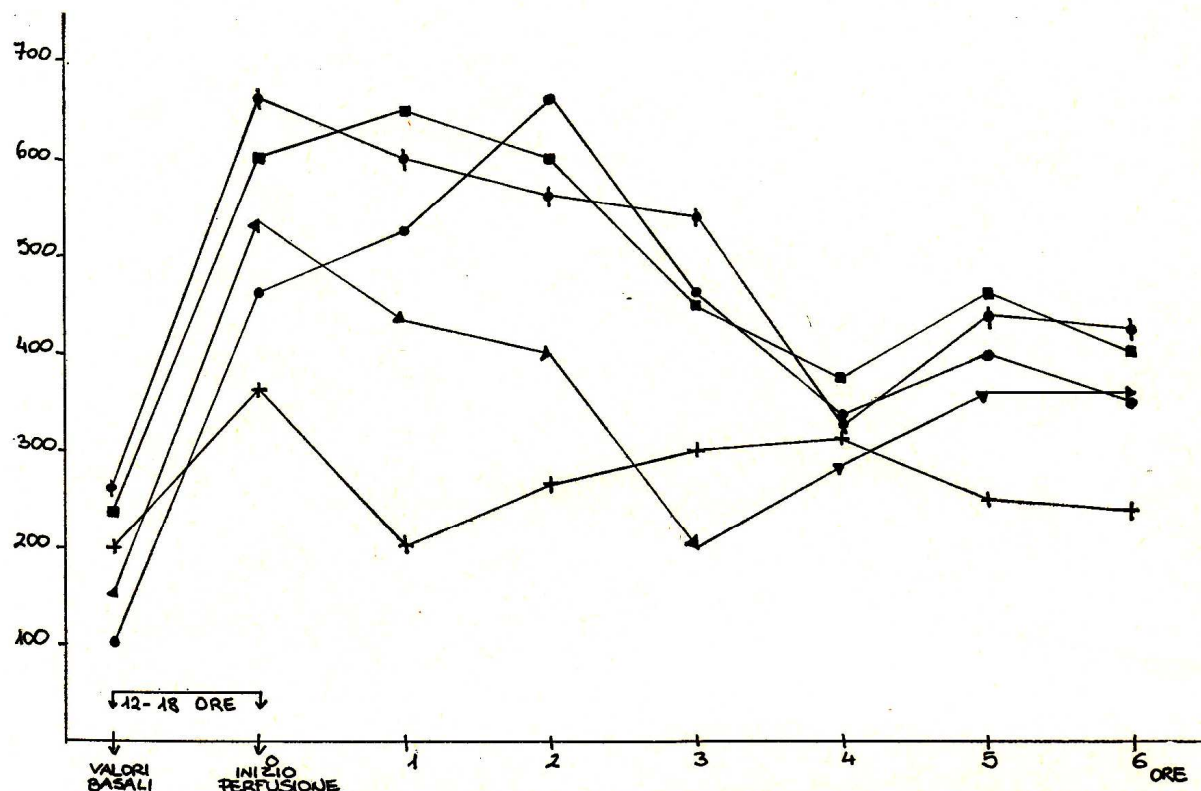


Fig. 6. — Particolare della fig. 5 a più alto ingrandimento.

che la tendenza alla normalizzazione dei valori di amilasemia segue un andamento più lento specialmente a livello della seconda e della terza ora.

È pertanto ipotizzabile che, ove non si sia ancora instaurato uno stato di tossiemia en-

zimatica, l'infusione per via arteriosa riesca a neutralizzare in maniera più selettiva ed efficace gli enzimi pancreatici concentrati a livello dell'interstizio pancreatico e non ancora massivamente riversatisi nella circolazione sistemica.



Graf. 5. — Comportamento dell'amilasemia durante l'infusione endovenosa con antiienzimi (Trasylo) dopo 12-18 ore dalla induzione della P. A.

### Conclusioni

Ci preme innanzitutto osservare che la sperimentazione di cui abbiamo riferito costituisce il punto iniziale di una ricerca che intendiamo svolgere in futuro secondo criteri di maggior completezza, sia da un punto di vista sperimentale che da un punto di vista delle possibili applicazioni cliniche.

Per quanto modesta, tuttavia la serie degli esperimenti da noi eseguiti ci sembra abbia consentito di ottenere dei risultati preliminari che hanno giustificato pienamente le motivazioni della ricerca stessa.

Il trattamento della P.A. con farmaci anti-proteasi, instaurato tardivamente e condotto per via intra-arteriosa attraverso l'arteria splenica, ha dimostrato la sua piena efficacia sia rispetto agli animali di controllo non trattati sia rispetto al gruppo di animali trattati agli stessi dosaggi e nel medesimo arco di tempo per via endovenosa. Se una limitazione a tale tipo di trattamento esiste, questa è secondo noi dovuta al fatto che le lesioni pancreatiche sembrano suscettibili di un deciso miglioramento sia da un punto di vista istopatologico che biochimico, particolarmente nei casi in cui la lesione non

abbia varcato i limiti del secondo stadio; i migliori risultati infatti sono stati da noi ottenuti nei casi in cui non si era ancora instaurato un quadro conclamato di tossiemia enzimatica. In quest'ultimo caso la soluzione ottimale ci sembra poter derivare dall'associazione del trattamento endoarterioso con l'infusione endovenosa del farmaco.

È ovvio che tale ipotesi andrà in futuro controllata con un'ulteriore serie di sperimentazioni, ferma restando la validità del metodo sperimentale da noi impiegato che, in virtù dell'assoluta integrità anatomica del pancreas che esso comporta, riteniamo ottimale anche ai fini della valutazione dei risultati anatomico-patologici e biochimici considerati a distanza di tempo. Per queste ragioni i nostri risultati ci incoraggiano a proseguire ed approfondire le indagini sull'argomento, con particolare riferimento allo studio del metabolismo dei carboidrati, che senza dubbio, per nostra constatazione e per asserzione di altri Autori, viene sicuramente turbato nella P.A.

Si tratterà pertanto di stabilire anche in questo caso il grado di reversibilità e le possibilità di recupero funzionale dell'attività



endocrina del pancreas dopo adeguato trattamento enzimatico.

È nostro intendimento infine valutare in futuro le possibilità di applicazione pratica alla clinica umana della metodica da noi presentata, cercando di precisare in sede sperimentale i limiti e soprattutto le indicazioni a tale modalità di trattamento. Riteniamo comunque di aver potuto dare un valido seppur limitato contributo alle conoscenze sul trattamento di questa affezione, della quale Mercadier, al 72° Congresso della Società Francese di Chirurgia, disse: « In caso di pancreatite acuta si fa ciò che si può, ciò che si vuole, quasi mai ciò che si dovrebbe ».

#### SUMMARY

*From the 2nd Department of Surgical Pathology (Head: Prof. U. Ruberti), University of Milan.*

**A. Mattioli, R. Scorza, F. Giordanengo, A. Odero, P. Candiani and P. Mingazzini: Selective arterial perfusion with antienzymes in experimental acute pancreatitis: Preliminary experience.** — Authors analyze some results obtained treating, with selective arterial perfusion (using antienzymes), experimental acute pancreatitis in dogs (fifteen). The first dogs' group was used to perform several experimental acute pancreatitis; the second group was treated by selective arterial perfusion and was related to group of dogs treated by i.v. antienzymes drugs. Histological and biochemical data are discussed. The results obtained with arterial perfusion are preliminary referred as better than classic i.v. antienzymes drugs therapy.

**KEY WORDS.** — Experimental acute pancreatitis - Selective arterious perfusion.

[« Min. Chir. », 34, 771-788, (May) 1979 — A. Mattioli, R. Scorza, F. Giordanengo, A. Odero, P. Candiani, P. Mingazzini: « La perfusione arteriosa selettiva con antienzimi in pancreatite acuta sperimentale. Esperienza preliminare »].

#### BIBLIOGRAFIA

- Anderson M. C.: « Venous stasis in the transition of edematous pancreatitis to necrosis ». *JAMA*, 183, 534, 1963.
- Battisti C. e coll.: « Valutazione dei gradienti pressori nel dotto pancreatico con ansa duodenale chiusa nel cane ». *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, XLII, 2, 82, 1966.
- Beck I. T. e coll.: « The effect of a trypsin inhibitor, Trasylol, on the course of bile and trypsin-induced pancreatitis in dogs ». *Gastroenterology*, 48, 4, 478, 1965.
- Bel A.: « Les inhibiteurs d'enzymes protéolytiques. Introduction pharmacodynamique et physiopathologique ». *Lyon Méd.*, 18, 1133, 1962.

- Bernard A.: *Arch. Mal. App. Dig.*, 50, 1010, 1961.
- Bernard C.: « Memoires sur le pancreas et sur le rôle du suc pancréatique ». *Comp. Rend. Acad. Sc.*, 1, 379, 1856.
- Blume F.: « Zue Frage der Intravitalen Selbstverdauung des Pankreas ». *Versammlung deutscher Naturforscher und Zerte vom herzoglich Braunschweigischen Staatsministerium, Brunswick*, p. 132, 1897.
- Blumel G.: « Experimentelle Untersuchungen bei der durch Fettemulsionen ausgelosten Pankreatitis der Katze (Experimental investigations in felice pancreatitis induced by fatty emulsions) Wien ». *Klin. Wschr.*, 78, 847, 1966.
- Brancato U. e coll.: « Ricerche sull'azione dell'inibitore proteasico di Frey e Werl nella pancreatite acuta sperimentale ». *Arch. Soc. Med. Chir. Messina*, anno X, fasc. 1, 1966.
- Brobst D. e coll.: « Evaluation of serum amylase and lipase activity in experimentally induced pancreatitis in the dog ». *J. Am. Vet. Assoc.*, 157, 1697, 1970.
- Castiglioni G. C.: « Alterazioni emodinamiche nella pancreatite acuta sperimentale ». *Minerva Medica*, 55, 42, 1693, 1964.
- Castiglioni G. C.: « "La pancreatite acuta": suggerimenti dell'esperienza alla clinica ». *Chir. e Pat. Sperim.*, vol. XII, fasc. 9, 1964.
- Cestrini G.: « La pancreatite sperimentale ». 75° Congresso Soc. Ital. Chir., *Arch. Att.*, 1964.
- Cavallari A. e coll.: « Studio intravitale della vascolarizzazione lobulare del pancreas normale del cane ». *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, XLIII, fasc. 2, 1966.
- Cirenei A. e coll.: « Acute pancreatitis: a clinical contribution to the essential clinical and diagnostic problems with its modern management ». *Chir. Gastroent.*, vol. 5, n. 2, 1971.
- Conti E. e coll.: « Antienzimi e pancreatite acuta ». *Chir. e Pat. Sperim.*, V, 13, fasc. 11-12, 1965.
- Delcourt M. M. A. e coll.: « Amylasurie et pancreatite aigue: étude expérimentale chez le chien ». *Biol. Gastroent.*, Tome I, 31, 1968.
- Dobovienik W. e coll.: « Ueber die Bildung der Kallikreins in Pankreas ». *Ztschr. Klin. Med.*, 156, 381, 1960.
- Durst A. e coll.: « Factors in the pathogenesis of experimental acute pancreatitis in the rat ». *Europ. Surg. Res.*, 5, 348, 1975.
- Elliot D. W. e coll.: *Ann. Surg.*, 146, 668, 1947.
- Elliot D. W. e coll.: « Alterations in the pancreatic resistance to bile in the pathogenesis of acute pancreatitis ». *Am. Surg.*, 146, 669, 1957.
- Frey E. K. e coll.: *Therap. Woche*, 4, 323, 1953.
- Galletti G. e coll.: « La pancreatite acuta sperimentale da ansa duodenale chiusa ». *Riv. Gastroenterol.*, 19, 675, 1967.
- Galletti G. e coll.: « Acute pancreatitis: Experimental contribution to better etio pathogenetic understanding ». *Digestive Surgery*, p. 503, 1971.
- Gibbs C. e coll.: « Radiological features of inflammatory conditions of the canine pancreas ». *J. small Anim. Pract.*, 13, 531, 1972.
- Goodhead B. e coll.: « The effect of postganglionic sympathectomy on the development of hemorrhagic pancreatitis in the dog ». *Annals of Surgery*, 170, 6, 951, 1969.

- Greve T. e coll.: « Acute pancreatitis with coexistent diabetes mellitus an experimental study in the dog ». *Am. J. Vet. Res.*, 34, 7, 939, 1973.
- Grozinger H. e coll.: « Arterielle Perfusion des Pankreas mit Trasylol bei akuter Pankreatitis ». *Gastroenterologie*, Heft 4, 223, 1965.
- Grozinger H. e coll.: « Experimental pancreatitis ». *Proteinase Inhibition in Medicine and Surgery*, 1967.
- Herva P.: « Experimental biliary pancreatitis in dogs. Agar electrophoretic study of the degradation of pancreatic tissue proteins ». *Scand. J. Gastroenterol.*, Suppl. 8, 5, 14, 1970.
- Ihse I. e coll.: « The effect of peroral and gastric trypsin inhibitor ingestion on the exocrine and endocrine pancreatic function in the rat ». « Kininogenases kalliocrin », *Ist. Int. Symp.*, Maganza, 1972.
- Keith L. M. e coll.: « Blood volume deficits in pancreatitis ». *Surg. Forum*, 40, 380, 1954.
- Kunitz M., Northrop: *J. Gen. Physiol.*, 19, 991, 1936.
- Lojacono L. e coll.: « Rilievi emodinamici, enzimatici, della proteinemia e della calcemia in corso di pancreatite acuta sperimentale trattata con inibitori triptici e callicreïnici ». *Arch. At. Soc. Ital. Chir.*, vol. II, p. 66, 1964. *Cong. Roma*.
- Lojacono L. e coll.: « La perfusione intraperitoneale con antienzimi nel trattamento della pancreatite acuta ». *Chir. Pat. Sper.*, vol. 18, fasc. 2, 1970.
- Maillet-Guy P. e coll.: « Essai d'analyse experimentale de l'action des anti-enzymes sur l'evolution des pancreatites aiguës ». *Soc. Med. Hopiteaux*, Lyon, p. 39, 1966.
- McHardy G. e coll.: « Pancreatitis experimental and clinical: an evaluation of trypsin-kallikrein inhibitor ». *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, p. 146, 1968.
- Mercadier M.: 72° Congr. Franc. di Chir.
- Miller M. E. e coll.: « Anatomy of the dog ». W. B. Saunders Company, 345-362; 410; 706-10; 833-834; 1964.
- Morgan A. e coll.: « Postoperative changes in the trypsin inhibitor activities of human pancreatic juice and influence of infusion of Trasylol on the inhibitor activity ». *Amer. J. Surg.*, 115, 2, 131, 1967.
- Morra A. e coll.: « Pancreatite acuta enzimatica - attuali orientamenti sulla patogenesi diagnosi e terapia ». *Chir. Gastroent.*, vol. III, fasc. IV, 1969.
- Neurath H.: In « The exocrine Pancreas - Symposium Ciba Foundation ». Churchill ed., 1962.
- Nodine J. H. e coll.: « Proteinase inhibitors in human pancreatitis: digital computer analysis of clinical research data ». *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 146, 564, 1968.
- Nugent F. W. e coll.: « Direct arterial infusion of anti-enzymes in experimental pancreatitis ». *Lahey Clin. Found. Bull.*, 15, vol. 15, 1966.
- Nugent F. W. e coll.: « Arterial anti-enzymes in experimental pancreatitis ». *Clin. Res.*, 16, 2, 289, 1968.
- Nugent F. W. e coll.: « Arterial infusion of anti-enzymes in the treatment of experimental pancreatitis ». *Am. J. Dis.*, 14, 6, 415, 1969.
- Opie E. L., Menkins J. C.: *J. Exp. Med.*, 11, 561, 1909.
- Pfeffer R. B. e coll.: « The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in dogs ». *Surg. Forum*, 8, 248, 1957.
- Popper H. L. e coll.: « Transition of pancreatic edema into pancreatic necrosis ». *Surg. Gyn. Obst.*, 87, 79, 1948.
- Raithel D. e coll.: « Acute pancreatitis after operation involving extracorporeal circulation ». *Chirurg.*, 41, 2, 518, 1970.
- Redaelli P.: « Anatomia Patologica ». CEA, Milano, 1947.
- Rich A. R., Duff G. L.: « Experimental and pathological studies on the pathogenesis of acute hemorrhagic pancreatitis ». *Bull. Hopkins Hosp.*, 58, 212, 1936.
- Raule M. e coll.: « Attuali vedute sul trattamento della pancreatite acuta ». *Atti Acc. Med. Lomb.*, 25, n. 1, 1970.
- Schapiro H. e coll.: « Acute hemorrhagic pancreatitis in the dog ». *Arch. Surg.*, 107, 608, 1973.
- Stefanini P. e coll.: *Atti 66° Congr. Soc. It. Chirurgia*, Roma, 1964.
- Thompson A. G.: « Proteinase inhibitors in experimental and clinical pancreatitis ». *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 146, 540, 1968.
- Tountas C.: « Local intra-arterial infusion of anti-enzymes in the treatment of acute pancreatitis ». *Surgery*, 60, 1235, 1966.

[Indirizzo degli Autori:

A. Mattioli - R. Scorza - F. Giordanengo  
A. Otero - P. Candiani - P. Mingazzini  
Istituto di Patologia Chirurgica II  
Policlinico Universitario - Milano]