
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„IULIU HAȚIEGANU” CLUJ NAPOCA
2009

Dr. Grigore Botoi

**Contribuții la diagnosticul și
tratamentul pancreatitei acute**

*TEZĂ PENTRU OBȚINEREA TITLULUI DE
DOCTOR ÎN ȘTIINȚE MEDICALE
DOMENIUL MEDICINĂ, SPECIALITATEA
CHIRURGIE*

Conducător științific :

Prof. univ. Dr. Aurel Andercou

CUPRINS

LISTA ABREVIERILOR	5
INTRODUCERE.....	6
PARTEA GENERALĂ: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	8
CAPITOLUL 1. FIZIOPATOLOGIA PANCREATITEI ACUTE.....	8
CAPITOLUL 2. DIAGNOSTICUL PANCREATITEI ACUTE	21
2.1. DIAGNOSTICUL POZITIV	21
2.2. DIAGNOSTICUL DIFERENȚIAL	32
2.3. DIAGNOSTICUL ETIOLOGIC	32
2.4. DIAGNOSTICUL GRAVITĂȚII	34
2.5. DIAGNOSTICUL INFECȚIEI	50
CAPITOLUL 3. EVOLUȚIE ȘI COMPLICAȚII.....	52
3.1. EVOLUȚIE	52
3.2. COMPLICAȚII	53
CAPITOLUL 4. MANAGEMENTUL PANCREATITEI ACUTE	56
4.1. TRATAMENTUL CONSERVATOR	56
4.2. TRATAMENTUL CHIRURGICAL.....	70
CAPITOLUL 5. TERAPII VIITOARE ÎN PANCREATITĂ ACUTĂ.....	89
CAPITOLUL 6. GHID DE MANAGEMENT IN PANCREATITA ACUTĂ.....	90
PARTEA SPECIALĂ : CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	93
CAPITOLUL 1. PROTOCOLUL DE CERCETARE.....	93
Scop.....	93
Obiective	93
Material și metodă.....	94
CAPITOLUL 2. STUDIUL DESCRIPTIV AL EȘANTIONULUI.....	99
Scop.....	99
Metoda.....	99
Analiza statistică. Rezultate	99
Discuții	123
CAPITOLUL 3. Evaluarea capacității lavajului și drenajului peritoneal precoce și prelungit prin abord laparoscopic de a ameliora evoluția pancreatitei acute severe	131
Scop.....	131
Material și metodă.....	131
Analiză statistică. Rezultate	132
Discuții	224
Concluzii	235
CAPITOLUL 4. Analiza metodei de depistare a infecției necrozelor prin culturi din lichidul de lavaj peritoneal	237
Scop.....	237
Material și metodă.....	237
Analiză statistică. Rezultate.....	237
Discuții	241
Concluzii	Error! Bookmark not defined.
CAPITOLUL 5. Evaluarea capacității prognostice a glicemiei	246
Scop.....	246
Material și metodă.....	246
Analiză statistică. Rezultate.....	246
Discuții	257

Concluzii	259
CAPITOLUL 6. Precizarea aptitudinii interleukinei 17 de marker biologic precoce al pancreatitei acute severe.....	261
Scop.....	261
Material și metodă.....	261
Analiză statistică. Rezultate	262
Discuții	314
Concluzii	320
CONCLUZII	321
REFERINTE	326
ANEXE – CAPITOLELE PUBLICATE ALE CERCETĂRII.....	350

- Botoi G, Andercou A. Lavajul și drenajul peritoneal precoce și prelungit pe cale laparoscopică în pancreatita acută severă. *Chirurgia* 2009;104(1):71-5.
- Botoi G, Andercou A. Interleukina 17-marker predictiv precoce al pancreatitei acute severe. *Chirurgia* 2009;104(4):429-36.

Cuvinte cheie : pancreatita acută severă, necroza pancreatică, lavaj peritoneal precoce și prelungit, laparoscopie, infecție, glicemie, interleukina 6, interleukina 17

Pancreatită acută este o boală inflamatorie a pancreasului cu etiologie multifactorială, și evoluție potențial letală prin implicarea variabilă a țesuturilor regionale peripancreatice și a diverselor sisteme și organe. Ea constituie un obiectiv important al cercetării medicale actuale datorită incidenței în creștere, a mortalității încă ridicate și nu în ultimul rând datorită incertitudinilor și controverselor existente referitoare la fiziopatologie, diagnostic și tratament.

Tema Tema lucrării de doctorat abordează, prin obiectivele propuse, problematica actuală referitoare la metode noi de diagnostic și tratament în strânsă legătură cu concepția fiziopatologică actuală a acestei boli.

În secțiunea **Stadiul actual al cunoașterii** sunt prezentate achizițiile recente dar și controversele legate de aceasta afecțiune. Astfel, fiziopatologia PA este deocamdată incomplet cunoscută. Concepția actuală este integrativă, asociind teoria clasică a activării enzimatică cu teoria răspunsului inflamator, inițial localizat și ulterior generalizat. Se consideră că etapele principale sunt activarea enzimatică și autodigestia glandulară, răspunsul inflamator, inițial localizat și ulterior generalizat și disfuncția organică.

Evenimentele fiziopatologice din PA se declanșează la nivelul celulelor acinare pancreatice. Un eveniment crucial este activarea tripsinei care determină, conform concepției clasice, activarea “în cascadă” a altor enzime pancreatice și a unor mediatorii precum histamina, serotonina, sistemul kininic, sistemul complement, sistemul coagulare-fibrinoliză. Recent se

consideră că cel mai important rol în generalizarea răspunsului inflamator și implicit a bolii îl au citokinele, în principal TNF α și interleukina 1, dar și interleukinele 2, 6 și 8, ICAM (InterCellular Adhesion Molecule), PAF(Platelet Activating Factor), etc. Acțiunea lor este mediată de o serie de factori de transcripție sau de sisteme de semnalizare precum NF κ B (Nuclear Factor kappa Beta), AP-1(Activating Protein-1), MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), STAT(Signal Transducers and Activators of Transcription), JAK(Janus kinase), etc. Toți acești mediatori eliberați ca urmare a injuriei pancreatice trec în circulația generală și ajung să fie produși și de alte organe (plămâni, ficat, rinichi, etc) a căror funcție devine deficitară. Insuficiența multiorganică poate evolua spre deces. În urma injuriei pancreatice, balanța dintre mediatorii proinflamatori și cei antiinflamatori (IL-4, IL-10, IL-1RA – Interleukin-1 Receptor Antagonist, SOCS - Suppressors Of Cytokine Signalling) se înclină în favoarea primilor, mai ales în prezența unui defect genetic congenital care scade efectul factorilor de protecție.

În prezent se acceptă că diagnosticul pozitiv de PA se stabilește pe baza a minim două din următoarele trei criterii : durere abdominală în context clinic semnificativ, creșterea , în sânge sau în urină, a concentrației enzimelor pancreatice, în principal a amilazelor, la valori de minim trei ori mai mari decât cele normale și semne specifice la examenul CT.

Stabilirea timpurie a etiologiei este importantă pentru managementul ulterior. Dintre achizițiile recente , cele mai valoroase în stabilirea diagnosticului sunt examenul computer tomograf, rezonanța magnetică nucleară și colangiopancreatografia endoscopică retrogradă, ultima având și valențe terapeutice. Recomandarea actuală este ca procentul pancreatitei acute idiopatice să nu depășească 10% dintre cazuri. În situațiile în care se suspicionează infectarea necrozelor cea mai valoroasă metodă de depistare este considerată FNAB(fine needle aspiration for bacteriology).

Determinarea precoce a severității formei clinice de boală este necesară pentru alocarea corectă a resurselor terapeutice și pentru că „fereastra terapeutică” în care tratamentul are eficacitate maximă are o durată de 48-72ore de la debut înainte de instalarea disfuncțiilor organice.

Criteriile clinice nu constituie un instrument fidel de apreciere precoce a gravității. Scorurile prognostice au reprezentat o achiziție valoroasă pentru practica medicală. Majoritatea au o valoare predictivă redusă și necesită eventual 48ore pentru calculare, interval de timp prețios pentru evoluția ulterioară. Scorul Balthazar combină gradele PA, stabilite de Ranson, cu extensia necrozei evidențiate la examenul CT cu substanță de contrast.

Pentru stabilirea precoce a gravității se au în vedere și diverși parametri biochimici. Markerii injuriei pancreatice (Trypsinogenul 2, TAP-trypsinogen activation peptide, Pro-carboxipeptidaza B, CAPAP-carboxypeptidase B activation peptide) au avantajul că apar precoce în ser, ca urmare a injuriei pancreatice, dar concentrațiile scad rapid, încât după 3-4 zile sunt inutilizabili pentru monitorizarea evoluției. Unul din obiectivele principale ale cercetării actuale îl constituie evaluarea citokinelor, datorită rolului esențial jucat în generarea și amplificarea răspunsului inflamator și datorită posibilității ca acestea să devină ținte terapeutice pentru manipularea acestui răspuns al organismului. S-a constatat că nivelurile plasmatică ale unor citokine (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, PAF) se corelează cu formele severe, complicate și potențial letale de PA. Ele au o capacitate predictivă ridicată și oferă posibilitatea monitorizării evoluției dar sunt nespecifice procesului patologic pancreatic, au un preț prohibitiv și mai ales, deocamdată, au metode laborioase de dozare ceea ce le exclude utilizarea în condiții de urgență. În prezent, ghidurile practice recomandă, ca și posibilități de apreciere a severității PA, examenul CT cu scorul aferent și proteina C reactivă (CRP) la o valoare plasmatică mai mare de 150mg/L. Principala servitute a CRP o constituie latența diagnostică, fiind necesare 48ore pentru o evaluare corectă.

Evoluția pancreatitei acute este diferită, în funcție de forma clinică de boală. Forma ușoară survine în aproximativ 80% dintre cazuri și se caracterizează prin afectare organică minimă (edem), cu evoluție spontană favorabilă, autolimitantă în 3-5 zile, cu recuperare integrală și răspuns bun la tratamentul suportiv, fiind necesare numai analgezie și resuscitare lichidiană. Mortalitatea este mai mică de 1%. Evoluția naturală a pancreatitei acute severe este bifazică, incluzând o fază precoce, vasoactivă și toxică, produsă de sindromul răspunsului inflamator sistemic, având o durată de 2 săptămâni și una tardivă, dominată de complicații septică. Mortalitatea în aceste forme este de 20-35%. Infecția este cea mai redutabilă complicație și cel mai important factor de risc evolutiv.

Managementul al PA este și în prezent prin excelență conservator, suportiv și în cazuri selecționate chirurgical. Tratamentul conservator în PAS trebuie să fie precoce și agresiv și are ca obiectiv principal prevenirea și combaterea disfuncțiilor multiorganice prin susținerea organelor și sistemelor. Resuscitarea lichidiană, terapia antialgică, profilaxia antibiotică și asigurarea suportului nutrițional constituie componente importante ale tratamentului conservator, măsuri care, de altfel, au contribuit substanțial la reducerea mortalității. Riscurile selectării de tulpini microbiene rezistente și cel al infecției fungice justifică propunerea de administrare a antibioticelor numai în cazuri selecționate. Balanța azotată negativă din PAS reclamă asigurarea suportului nutrițional. Ghidurile de practică recomandă administrarea

nutrienților pe sondă nazojejunală. Recent s-a demonstrat că situsul gastric este la fel de bine tolerat. Studiile clinice au demonstrat ineficiența unor medicamente consacrate în terapia PA: antienzimatică (Trasilol, Gabexat mesilat, Aprotinina), somatostatine sau octreotide, antioxidante, Lexipafant (blocant al TNF), etc.

În ultimii ani s-a produs o schimbare profundă în managementul chirurgical al bolnavilor cu pancreatită acută. Această schimbare a fost statuată în 1992, la Conferința de Consens de la Atlanta, SUA, care a avut un rol esențial în direcționarea practicii clinice. Cu acest prilej s-a realizat un sistem de clasificare bazat pe criteriile de apreciere anatomoclinice obiective ale bolii, ceea ce a permis crearea premizelor optimizării tratamentului. Ca urmare, tratamentul chirurgical a cedat în mare măsură locul terapiei conservatoare, continuând, însă, să suscite numeroase controverse în ceea ce privește indicațiile, momentul operator și tehnica utilizată.

Indicația cea mai consistentă a tratamentului chirurgical este infecția documentată a necrozei. Opțiunea chirurgicală este justificată și în prezența abdomenului acut chirurgical asociat cu diagnostic incert de PA, și a complicațiilor de resort chirurgical. Cele mai multe controverse sunt legate de aprecierea oportunității tratamentului chirurgical în prezența necrozei sterile asociate cu insuficiență pluriviscerală, cu deteriorarea stării clinice sau persistența insuficiențelor organice în condițiile unei terapii intensive corecte. Dacă s-a ajuns la un consens în ceea ce privește momentul operator și operația standard, controversele persistă în ceea ce privește managementul postnecrosectomie. Pentru a se asigura un control eficient al complexului lezional și pentru a maximiza eliminarea exudatului și a țesutului necrotic restant sau neformat s-au imaginat mai multe metode: lavajul postoperator continuu, relaparotomia planificată și abdomenul deschis sau semideschis. Fiecare dintre aceste metode prezintă avantaje și dezavantaje dar încă nu au fost comparate printr-un studiu prospectiv. În ultimii ani s-au acumulat rapoarte care arată eficiența tratamentului miniinvasiv în pancreatita acută severă (chirurgie laparoscopică, tehnici endoscopice și drenaj percutan ghidat imagistic), dar aceste metode sunt în curs de evaluare.

Pancreatita acută biliară constituie o formă etiologică cu tratament bine individualizat. Orientarea terapeutică actuală este miniinvasivă, endoscopică și laparoscopică, atât în scop curativ cât și pentru profilaxia recidivei pancreatitei acute.

În secțiunea **Contribuții personale** este prezentat un studiu unicentric, prospectiv, analitic, controlat, diagnostic și terapeutic efectuat asupra a 138 pacienți internați și tratați succesiv cu diagnosticul de pancreatită acută pe Secția Chirurgie a Spitalului Județean de Urgență din Baia Mare în perioada 01.01. 2006-31.03.2009

Obiectivele cercetării au fost :

-
1. evaluarea metodei lavajului peritoneal precoce și prelungit efectuat prin abord laparoscopic în ameliorarea evoluției PAS.
 2. analiza metodei de depistare a infecției necrozelor prin culturi efectuate din lichidul de lavaj peritoneal
 3. evaluarea rolului glicemiei de marker prognostic al pancreatitei acute severe.
 4. precizarea valorii prognostice a interleukinei 17 în PAS

Eșantionul studiat a fost format din 138 subiecți a fost împărțit în trei loturi :

- Lotul A : Subiecți cu forme ușoare de pancreatită acută(n=67).
- Lotul B : Subiecți cu forme severe de boală tratați prin metoda lavajului și drenajului precoce și prelungit prin abord laparoscopic.
- Lotul C : Subiecți tot cu forme severe de boală dar care au urmat tratamentul standard, cu metodele cunoscute și acceptate în prezent.

Etapele cercetării au fost:

1. Stabilirea diagnosticului pozitiv și a formei clinice de boală.
2. Dozarea sanguină a glicemiei, a interleukinelor 6 și 17 în prima zi de la internare
3. Dozarea proteinei C reactive(CRP) în a doua zi și în ziua a 7-a de la internare
4. Operația miniinvazivă în a treia zi pentru subiecții lotului B. Se determină concentrația citokinelor în sânge și în lichidul intraperitoneal.
5. Dozarea plasmatică și peritoneală(pentru subiecții lotului B) a citokinelor în ziua a 6-a și în a 10-a zi de la internare.
6. Lavaj postoperator discontinuu cu ser fiziologic timp de 7 zile.
7. Efectuarea de culturi din aspiratul peritoneal prin tuburile de dren intraoperator, în a treia și a șaptea zi postoperator.
8. Monitorizarea clinică, biochimică și imagistică a evoluției pe parcursul internării.

Procedeu tehnic a constat în :

- Inserția trocarelor
- Explorarea cavității peritoneale, cu confirmarea PA și cu stabilirea bilanțului lezional intraabdominal
- Recoltarea de lichid peritoneal pentru dozarea citokinelor
- Lavaj peritoneal cu ser fiziologic
- Drenaj cu tuburi de plastic subhepatic și în spațiul Douglas
- Lavaj postoperator prelungit(7zile) cu ser fiziologic, discontinuu, în cantități variabile, dependente de valorile presiunii abdominale și de funcțiile respiratorie și cardiovasculară.

Metoda lavajului și drenajului precoce și prelungit prin abord laparoscopic este argumentată fiziopatologic prin faptul că la scurt timp de la producerea injuriei pancreatice în cavitatea peritoneală se eliberează mediatori inflamatori care determină agravarea bolii prin absorbția în circulația generală, ceea ce produce generalizarea răspunsului inflamator, apariția disfuncțiilor multiorganice și favorizarea translocăției bacteriene cu suprainfecția necrozelor. Scopul este acela de ameliorare a evoluției pancreatitei acute severe prin blocarea acestui mecanism. Metoda s-a dovedit eficientă deși este limitată de distensia abdominală prin ileus paralic și de contraindicațiile abordului laparoscopic. Astfel, în etapa diagnostică se confirmă evaluarea realizată prin alte mijloace sub raportul diagnosticului pozitiv, a celui de formă clinică precum și al comorbidităților intraabdominale. În acest mod devine posibilă evitarea laparotomiei exploratorii precoce, generatoare de morbiditate și mortalitate suplimentare. Nici etapa terapeutică nu este consumatoare de timp, gesturile chirurgicale fiind minime și realizate în condițiile abordului miniinvaziv. Cu acest prilej devin posibile abordarea laparoscopică a caili biliare principale în caz de icter obstructiv sau realizarea unei jejunostomii.

Beneficiile directe constau în atenuarea răspunsului inflamator și în diminuarea infecției tardive și a consecințelor sale. Modelarea răspunsului inflamator sistemic a fost dovedită prin faptul că, deși deși incidența disfuncției multiorganice a fost comparabilă, și anume de 78,1% la subiecții lotului B, respectiv 76,9% la subiecții lotului C, durata medie a acestora a fost semnificativ mai mică în lotul cu lavaj decât în cel fără lavaj (3,6 zile versus 7,0 zile). De asemenea, acest efect a fost demonstrat de modificările concentrațiilor proteinei C reactive și a interleukinei 6. La subiecții lotului C nu s-au evidențiat scăderi semnificative între prima și a zecea zi de la internare, ceea ce arată evoluția continuă a procesului inflamator precum și eficacitatea limitată și aleatorie a tratamentului actual al pancreatitei acute severe.

La nivelul lotului B nu au existat scăderi ale concentrațiilor interleukinei 6 între a treia și a șasea zi de la internare, ceea ce atestă ineficiența lavajului peritoneal de scurtă durată. În schimb, s-au înregistrat scăderi semnificative atât ale CRP cât și ale IL6 până în a șaptea, respectiv a zecea zi de la internare, ca și la subiecții lotului A, care au dezvoltat forme ușoare de boală, fapt ce atestă diminuarea fenomenelor inflamatorii și explică rezultatele mai bune obținute la acești pacienți. Deși mortalitatea precoce la subiecții loturilor celor două loturi a fost comparabilă (12,50%, n=4, respectiv 12,82%, n=5), acest fenomen se explică prin faptul că decesele s-au produs înainte să se manifeste efectele lavajului peritoneal prelungit.

Lavajul peritoneal prelungit a determinat scăderea ratei infecției (15,62%, n=5 la subiecții lotului B și 30,76%, n=12 la subiecții lotului C). De asemenea, dacă rata mortalității tardive la nivelul lotului fără lavaj a fost de 15,38% (n=6), la nivelul lotului cu lavaj a fost nulă. În

strânsă legătură cu complicațiile infecțioase, morbiditatea a fost mai încărcată și necesarul de tratament chirurgical a fost net superior la subiecții lotului C.

Analiza notelor acordate de subiecți în diferite momente ale evoluției, cu rezervele impuse de subiectivismul metodei, arată faptul că recuperarea pe termen lung a subiecților lotului C, tratați convențional, este similară cu a subiecților lotului B, care au beneficiat de lavaj peritoneal, dar pe termen scurt starea clinică este mult mai bună la externare pentru pacienții din a două categorie.

Al doilea obiectiv al cercetării este dependent de primul și a constat în evaluarea posibilității depistării precoce a infecției necrozelor la subiecții tratați prin metoda lavajului peritoneal precoce și prelungit miniinvaziv. Din cei 5 subiecți ai lotului B într-un caz a fost identificat *Pseudomonas spp.* în ziua suprimării drenajului și *Klebsiella spp.* încă din a treia zi postoperator. În aceste situații infecția a avut un debut mai rapid, operația de evacuare a necrozelor infectate având loc în a 18-a, respectiv în a 11-a zi de la internare.

În condițiile în care calea de contaminare microbiană a necrozelor este incertă, aceste rezultate confirmă existența căii intraperitoneale, prin intermediul revărsatului lichidian. Ea constituie un adjuvant prețios pentru terapeut în absența altor metode performante de diagnostic (puncție ghidată imagistic) sau când alte metode (hemocultura) sunt inoperante în timp util. Manopera este cu atât mai valoroasă cu cât poate surprinde germenii enterici din lichidul peritoneal înainte de fixarea lor la nivelul necrozelor și de constituirea abceselor. În plus, tehnica este simplă, nepericuloasă și oferă rezultate rapide și care orientează antibioterapia din stadiile precoce ale constituirii infecției. Este logic de presupus că rata de succes crește proporțional cu precocitatea instituirii și cu durata menținerii lavajului peritoneal.

Glicemia la internare constituie un marker precoce controversat al severității pancreatitei acute. Comportamentul glicemiei în PA a fost studiat pe 125 subiecți, lot format din eșantionul de bază din care au fost excluse cazurile cu diabet zaharat cunoscut. Prin calcul statistic s-au determinat sensibilitatea și specificitatea glicemiei în identificarea PAS la diferite valori-prag, începând cu cea de 150mg/dl, citată mai des în literatură. Cel mai acceptabil compromis între sensibilitatea (78,12%) și specificitatea (78,68%) metodei a fost obținut la o valoare a glicemiei de 180mg/dl.

Testele statistice de corelație au evidențiat că glicemia >180mg/dl se corelează cu formele severe de PA (indice=0,78) și cu disfuncțiile organice (indice=0,65). Relația este mai slabă în cazul asocierii cu riscul de deces (indice=0,42) și mai ales cu posibilitatea apariției sepsisului (indice=0,37). Facilitatea determinării și predicția bună a formelor severe de pancreatită acută

și a disfuncțiilor organice fac din glicemie un instrument bun de apreciere precoce a gravității bolii.

Interleukina 17 a fost descoperită în 1993, numele fiind de fapt al unei familii compuse în prezent din 6 membri și 5 receptori. Acțiunea acesteia este proinflamatorie, fiind implicată într-o mare varietate de boli (psoriazis, lupus, scleroză multiplă, rețetul de allogrefa renală, neoplazii, etc.). Sensibilitatea și specificitatea în identificarea formelor severe de pancreatită acută a fost de 94,36%, respectiv 92,53%, superioară interleukinei 6 (91,54%, respectiv 89,55%), marker recunoscut al gravității acestei boli.

Testele statistice de corelație au evidențiat faptul că IL-17 este un marker prognostic foarte bun al PAS (indice de corelație = 0,86) și al disfuncțiilor multiorganice (indice de corelație = 0,77). De asemenea, este un bun indicator al evoluției fatale, corelația fiind de 0,54. În schimb, predicția sepsisului s-a dovedit mai redusă (indice de corelație = 0,47). Investigarea dinamicii IL-17 în PA a arătat că modificările concentrațiilor serice și peritoneale ale acestei citokine urmează îndeaproape pe cele ale interleukinei 6, cu care are strânse legături fiziopatologice.

Deși prezintă handicapul unei dozări laborioase care limitează accesibilitatea, datorită performanțelor sale, interleukina 17 este un marker prognostic precoce valoros în diagnosticul pancreatitei acute severe. Nivelurile serice și peritoneale se corelează cu un risc crescut de apariție a disfuncțiilor organice precum și cu evoluția fatală.

CURRICULUM VITAE

A. Date personale:

1. Nume prenume: Botoi Grigore
2. locul nașterii: 15.07.1961, Brăila, județul Brăila
3. Cetățenia: română
4. Starea civilă: căsătorit, 2copii

B. Studii:

- 2005- prezent- Doctorand științe medicale UMF "Iuliu Hațiegnu" Cluj Napoca
1999- Medic primar
1994- Medic specialist, specialitatea Chirurgie generală
1990- Admis la concursul de secundariat
1987-1990- Medic stagiar Spitalul Județean Baia Mare
1987- Absolvent Facultății de Medicină, Institutul de Medicină și Farmacie București
1980- Absolvent al liceului "Nicolae Bălcescu" din Brăila

C. Membru în asociații profesionale:

- Colegiul Medicilor
- Societatea Română de Chirurgie

D. Limbi străine cunoscute: franceză, germană, engleză

E. Memoriu de activitate științifică

Cursuri

- 1998- Curs de chirurgie laparoscopică, Clinica Chirurgie III, Cluj Napoca
- 1996- Curs de chirurgie vasculară, Rouen, Franța

Lucrări publicate:

- „Lavajul și drenajul peritoneal precoce și prelungit prin abord laparoscopic în pancreatita acută severă”. Chirurgia 1/2009
- „Interleukina 17-marker predictiv precoce al pancreatitei acute severe”. Chirurgia 4/2009
- „Anevrism al arterei splenice”. Chirurgia 1/2006
- „Plăgi hepatice prin arme de foc”. Chirurgia, nr. 3/2000
- „Hepatocarcinom cu evoluție particulară”. Chirurgia, nr.3/1999
- „Aspecte diagnostice și terapeutice în traumatismele hepatice” Revista Medicală Națională, nr. 4/1998

Lucrări comunicate:**Congreasul Național de Chirurgie Eforie Nord 2008**

- „Lavajul și drenajul peritoneal precoce și prelungit pe cale laparoscopică în pancreatita acută severă”
- „Interleukina 17-marker predictiv precoce al pancreatitei acute severe”

Actualități medicochirurgicale în oncologie, Baia-Mare, 2001

- „Boala neoplazică în activitatea secției Chirurgie Generală a Spitalului Județean Baia-Mare”. □ □
- „Experiența noastră în tratamentul chirurgical al cancerului gastric”.
- „Tratamentul chirurgical de urgență al cancerului colorectal”
- „Cancerul tiroidian”
- „Colecistectomia- factor de risc al cancerului colorectal?”
- „Varice primitive și recidivate ale membrelor inferioare”

Consfătuirea interjudețeană de Chirurgie Hepatobiliopancreatică, Baia-Mare, 1999

- „Aspecte economice comparative ale colecistectomiei clasice și laparoscopice”
- „Abdomenul cicatriceal în chirurgia laparoscopică”

Conferința interjudețeană de Chirurgie Generală, Baia-Mare, 1996

- „Traumatismele ileocolorectale”
- „Model de algoritm optim în abordarea bolnavului stomizat”
- „Experiența secției Chirurgie în tehnica laparoscopică”

Congresul Național de Chirurgie-1995

- „Patologia chirurgicală a tiroidei”

CONTENTS

LIST OF ABBREVIATIONS	5
INTRODUCTION.....	6
THE GENERAL PRESENTATION: Current state of knowledge.....	8
CHAPTER 1. Pathophysiology of acute pancreatitis.....	10
CHAPTER 2. DIAGNOSIS of acute pancreatitis	21
3.1. POSITIVE DIAGNOSIS.....	21
3.2. DIFFERENTIAL DIAGNOSIS.....	32
3.3. DIAGNOSIS ETIOLOGICAL.....	32
3.4. DIAGNOSIS OF GRAVITY	34
3.5. DIAGNOSIS OF INFECTION.....	50
CHAPTER 3. EVOLUTION AND COMPLICATIONS.....	52
4.1. EVOLUTION.....	52
4.2. COMPLICATIONS	53
CHAPTER 4. MANAGEMENT OF ACUTE PANCREATITIS	56
5.1. CONSERVATIVE TREATMENT	56
5.2. SURGICAL TREATMENT	70
CHAPTER 5. FUTURE THERAPIES IN ACUTE PANCREATITIS	89
CHAPTER 6. GUIDELINES OF ACUTE PANCREATITIS.....	90
PART SPECIAL: PERSONAL CONTRIBUTION.....	93
CHAPTER 1. RESEARCH PROTOCOL	93
Purpose	93
Goals	93
Material and method	94
CHAPTER 2. Descriptive analysis of sample.....	99
Goal	99
Method	99
Statistical analysis. Results	99
Discussions	123
CHAPTER 3. Capacity assessment of early and extended peritoneal lavage and drainage by laparoscopic approach to improve the development of severe acute pancreatitis.....	131
Goal	131
Material and Method	131
Statistical Analysis. Results	132
Discussions	224
Conclusions	235
CHAPTER 4. Analysis of the method for detection of necrosis infection by peritoneal lavage fluid cultures	237
Goal	237
Material and Method	237
Statistical Analysis.Results.....	237
Discussions	241
Conclusions	245
CHAPTER 5.Evaluation of prognostic capacity of glucose	246
Goal	246

Material and Method	246
Statistical Analysis. Results.....	246
Discussions	257
Conclusions	259
CHAPTER 6. Interleukin 17- specifying the ability of early biological markers of severe acute pancreatitis	261
Goal	261
Material and Method	261
Statistical Analysis. Results	262
Discussions	314
Conclusions	320
CONCLUSIONS	321
REFERENCES	326
ANNEXES - CHAPTERS OF RESEARCH PAPERS	350

Botoi G. Andercou A. The early and extended peritoneal lavage and drainage by laparoscopic approach in severe acute pancreatitis. *Chirurgia* 2009; 104 (1) :71-5.

Botoi G Andercou A. Interleukin 17-early predictive marker of severe acute pancreatitis. *Chirurgia* 2009, 104 (4) :429-36.

Keywords: severe acute pancreatitis, pancreatic necrosis, early and prolonged peritoneal lavage, laparoscopy, infection, blood glucose, interleukin 6, interleukin 17

Acute pancreatitis (PA) is an inflammatory disease of the pancreas with multifactorial etiology, and potential lethal evolution involving variable peripancreatic regional tissues and various systems and organs. It is an important objective of current medical research because of increasing incidence, of mortality still high and, last but not least, due to the uncertainties and controversies relating to pathophysiology, diagnosis and treatment.

The **theme** of the doctoral work approaches, through by the proposed objectives, current issues relating to new methods of diagnosis and treatment in conjunction with the current pathophysiological concept of the disease.

In the section of the **Current Stage of Knowledge** are presented the recent acquisitions and the controversy related to this disease. So, pathophysiology of AP is not completely known yet. The modern conception is integrative, linking the classical theory of enzyme activation with inflammatory response theory, initially localized and then generalized. One considers that the main steps are the enzymatic activation and glandular autodigestion, inflammatory answer, initially localized and then generalized, and organic disfunction.

The pathophysiological events of PA are triggered in acinare pancreatic cells. A milestone is activated trypsin to cause, as classical concept, the turning "cascade" of other pancreatic enzymes and some mediators such as histamine, serotonin, kininic system, complement system, coagulation-fibrinolysis system. Recently, it is considered that the most important role in generalized inflammatory response and the defaulting of the disease is due to

cytokines, mainly TNF- α and interleukin 1, but interleukins 2, 6 and 8, ICAM (InterCellular Adhesion), PAF (Platelet Activating Factor), etc.

Their action is mediated by a number of transcription factors or by signaling systems such as NF κ B (Nuclear Factor Beta Kappa), AP-1 (Activating Protein-1), MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription), Jak (Janus kinase), etc.. All these mediators released as a result of pancreatic injury and come over to the general circulation may be produced by other organs (lungs, liver, kidney, etc.) whose function is poor. Organ failure may progress to death. Following injury pancreatic the balance between proinflammatory and the antiinflammatory mediators (IL-4, IL-10, IL-1RA - Interleukin-1 Receptor Antagonist, SOCS - Suppressors Of Cytokine Signaling) tilts in favor of first, especially in the presence of a defect genetic factor that reduces the effect of protection.

Nowadays they accept that the positive diagnosis of PA is determined based on a minimum of two of the following criteria: abdominal pain in significant clinical context, the increasing of pancreatic enzymes in blood, urine or peritoneal fluid at least three times higher than normal and specific signs on CT examination.

Establishing early etiology is important for further management. Among recent acquisitions, the most valuable in diagnosis are computer tomography examination, nuclear magnetic resonance and endoscopic retrograde colangiopancreatography, the latest having therapeutic valence. Current recommendation is that acute idiopathic pancreatitis rate does not exceed 10% of cases. In situations in which infection necrosis is suspected, most valuable method is considered FNAB (Fine Needle Aspiration for Bacteriology).

The determination of early clinical form of severity of the disease is required for proper allocation of resources for treatment and because "the therapeutic window" in which the treatment has a maximum efficacy has a term of 48-72hours from onset, before installing organic dysfunctions.

The clinical criteria are not an early true assessment of the severity. The prognostic scores have been a valuable acquisition for the medical practice. Most of them have a low predictive value and require a 48hours for calculation the precious time for further development. Balthazar score combines IP grades, determined by Ranson, with extension necrosis revealed with contrast substance CT examination.

To establish the early severity into account various biochemical parameters are taken. The markers of pancreatic abuse/injury (trypsinogenul 2, TAP-Trypsinogen Activation Peptide, procarboxipeptidaza B, CAPAP-carboxypeptidase B activation peptide) have the advantage of

appearing early in serum as a result of pancreatic injury, but the concentrations decrease rapidly, so that after 3-4days they are unusable for monitoring progress.

One of the main objectives of current research is the assessment of the cytokines, due to the essential role played in the engendering and amplification of the inflammatory response, and due to the possibility that these might become therapeutic targets for manipulation of this response of the body. It was found that plasma levels of cytokines (TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-8, IL-10, PAF Platelet-Activating Factor) correlate with severe forms, complicated and potentially fatal/lethal for PA. They have a high predictive capacity and offer the possibility of monitoring the evolution process but they are nonspecific to the pathologic pancreatic process, having a prohibitive price, and especially now, having laborious dosage methods which restrict the use in emergency conditions.

Currently, practice guidelines recommend, as opportunities for assessing the severity of PA, the CT exam and the subsequent score and also the C reactive protein (CRP) to a greater plasma value higher than 150mg/L. Main servitude of CRP is the latent diagnose, 48hours being necessary for a correct assessment.

The evolution of acute pancreatitis is different, depending on the clinical form of disease. Mild form occurs in approximately 80% of cases and is characterized by minimal organic damage (edema), with favorable spontaneous evolution, self-limiting in 3-5days, with full recovery and good response to supportive therapy, being required only analgesia and fluid resuscitation. Mortality is less than 1%. The natural evolution of PAS is biphasic, including an early phase, vasoactive and toxic, produced by SIRS, with a duration of 2weeks and a late one, the latter being dominated by septic complications. The mortality in these forms is 20-35%. The infection is the most redoubtable complication and the most important risk factor of evolution.

The management of the PA is par excellence conservative, supportive and surgical in selected cases. The conservative treatment in PAS should be precocious and aggressive and it is mainly aimed at preventing and controlling organ dysfunction by supporting organs and systems. Resuscitation fluid therapy, analgesia, antibiotic prophylaxis and nutritional support are important components of conservative treatment, which, otherwise, have contributed substantially to reducing mortality in PAS. Risk of selecting resistant microbial strains and fungal infections justify the proposal of administration of antibiotics only in selected cases. Negative nitrogen balance of PAS requires nutritional support. Practice guidelines recommend the use of the probe nasojejunal for nutrients. Recently it was demonstrated that gastric situs is as well tolerated. Clinical studies have demonstrated the inefficiency of

established drugs in the therapy PA: antienzimatic drugs(Trasilol, Gabexat mesilate, Aprotinina), somatostatin or octreotide, antioxidant drugs, Lexipafant (blocked the TNF α), etc.

In recent years there has been a profound change in surgical management of patients with acute pancreatitis. This change was stated in 1992, at the Consensus Conference in Atlanta, USA, which had an essential role in directing clinical practice. On this occasion, it made a classification system based on objective criteria of assessment anatomoclinic disease, which has created premises to optimize treatment. Therefore, surgical treatment snapped in place largely to conservative therapy, continuing, however, to attract many controversies regarding indications, timing and the technique used.

The most consistent indication of the surgical treatment is the documented infection of necrosis. Surgical option is justified in the acute surgical abdomen associated with uncertain diagnosis of PA, and of complications of surgical resort. Most controversies are related to assessing the opportunity in the surgical treatment of sterile necrosis associated with multi-organic failures, with deteriorating clinical condition or persistent organic shortcomings in terms of intensive correct therapies.

If a consensus was reached regarding the time operator and standard operation, controversies persist regarding postnecrosectomy management. To ensure effective monitoring of lesion complex and to maximize the removing of the exudation and of the necrotic tissue, residual or neofomat, they have imagined several methods: postoperative continuous lavage, planned relaparotomia and open or halfopen abdomen. Each of these methods has advantages and disadvantages but they have not been compared yet in a prospective study.

In recent years reports have accumulated showing miniinvasive treatment effectiveness in severe acute pancreatitis (laparoscopic surgery, endoscopic techniques and imaging-guided percutaneous drainage), but these methods are under evaluation.

Acute biliary pancreatitis (PAB) is an etiology of treatment well individualized. Current therapeutic orientation is miniinvasive, endoscopic and laparoscopic, both in curative intent and for prophylaxis of relapse of acute pancreatitis.

In the section **Personal Contributions** is presented a unicentric, prospective, analytical, controlled, diagnosis and therapeutic study performed on the 138 hospitalized patients treated successively with the diagnosis of acute pancreatitis on Surgery Department of Emergency County Hospital of Baia Mare in the period 01.01. 2006-31.03.2009.

The research objectives were:

1. assessment method for precocious and prolonged peritoneal lavage performed by

laparoscopic approach in improving the evolution of PAS.

2. analysis method for detecting infection of necrosis made of cultures performed by peritoneal lavage fluid
3. assessing the role of blood glucose by prognostic markers of severe acute pancreatitis.
4. indication of prognostic value of interleukin-17 in PAS

The sample studied was made up of 138 subjects divided into three groups:

- Lot A: Subjects with mild acute pancreatitis (n = 67).
- Lot B: Subjects with severe disease who treated by precocious and prolonged lavage and drainage by laparoscopic method
- Lot C: Subjects with severe disease but followed the standard treatment, with currently known and accepted methods.

Stages of research were:

1. Positive diagnosis and clinical forms of disease.
2. Determination of blood glucose, of interleukins 6 and 17 in the first days of hospitalization
3. Determination of C-reactive protein (CRP) in the day two and 7th day of hospitalization
4. Miniinvasive operation on the third day for subjects determined Lot B. They determine the concentration of cytokines in blood and intraperitoneal fluid.
5. Plasma and peritoneal determination (for subjects batch B) of cytokines in on 6th and 10th days of hospitalization.
6. Postoperative lavage with saline, discontinuously, for 7 days.
7. Making cultures of peritoneal vacuuming by intraoperative drain tubes, in the third and seventh postoperative days.
8. Clinical, biochemical and imaging monitoring of the development during hospitalization

Techniques consisted of:

- Insertion of the trocars
- Exploration of the peritoneal cavity, with confirmation of PA and with establishing intraabdominal balance lesion
- Collecting of peritoneal fluid for determination of cytokines
- Peritoneal lavage with saline
- drainage with subhepatic plastic tube and in Douglas space
- Prolonged postoperative lavage (7 zile) with saline, discontinuous, in varying amounts, dependent by abdominal pressure values and respiratory and cardiovascular functions.

The method of precocious and prolonged lavage and drainage by laparoscopic approach is substantiated pathophysiological by the fact that shortly to produce pancreatic injury in the peritoneal cavity, inflammatory mediators are released that causes disease aggravated by the acquisition in general circulation, which produces widespread inflammatory response, appearance multiorgan dysfunction and fostering the bacterial translocation overgrowth necrosis. The aim is to improve the development of severe acute pancreatitis by blocking this mechanism.

The method proved effective although limited by abdominal distension by paralytic ileus and approached laparoscopic contraindications. Thus, in the stage of diagnosis is confirmed valuation by other means in terms of positive diagnosis, to the clinical form and the abdominal comorbidities. In this way it becomes possible to avoid early explorer laparotomy, generating additional morbidity and mortality. No therapeutic phase is time consuming, surgical gestures are minimal and made affordable miniinvasive abroad. On this occasion the laparoscopic approach is possible in cases of primary biliary obstructive of jaundice or achieve of jejunostomy.

Direct benefits consist of mitigating of the inflammatory response and reducing of late infection and its consequences. Modeling of systemic inflammatory response was evidenced by the fact that even though the incidence of organ dysfunction was comparable, ie 78.1% in subjects Lot B, respectively 76.9% in subjects Lot C, their average length was significantly lower in the lavage group than in the no lavage one (3.6 days versus 7.0 days). Moreover, this effect was demonstrated by altered C-reactive protein and interleukin 6. Lot C subjects showed no significant decrease between the first and the tenth day of hospitalization, indicating continued evolution of the inflammatory process and the limited and random effectiveness of current treatment severe acute pancreatitis.

In the batch B there was no decrease in the concentration of interleukin 6 in plasma between the third and the sixth day of hospitalization, which demonstrates the ineffectiveness of short-term peritoneal lavage. However, there were significant decreases in both CRP and IL6 until the seventh and the tenth day following admission, as subjects to A lot, who developed mild forms of the disease, which attests reduce inflammatory phenomena and explains the best results obtained in these patients. Although early mortality in subjects belonging to lots of two groups was comparable (12.50%, n = 4, respectively 12.82%, n = 5), this phenomenon explains the fact that deaths occurred prior to show effects of prolonged peritoneal lavage. Prolonged peritoneal lavage decreased the infection rate (15.62%, n = 5 to subjects batch B and 30.76%, n = 12 to subjects batch C). Also, if the mortality rate late in the

lot without lavage was 15.38% (n = 6), in the lot with lavage was null. Closely related to infectious complications, morbidity and needs of surgical treatment was superior in subjects batch C.

Analysis of notes given by subjects at different times of evolution, with reservations required by subjectivity of the method, show that long-term recovery of subjects Lot C, treated conventionally, is similar to batch B subjects who received peritoneal lavage, but short-term clinical condition is much better at discharge for patients in the second category.

The second objective of the research is dependent of the first one and was based on the assess of the possibility of early detection of infection of necrosis on patients treated by early and prolonged peritoneal lavage miniinvasive method. For those 5 subjects of lot B in one case was identified *Pseudomonas spp*, in the day of suppression of the drainage, and *Klebsiella spp* since the third day after surgery. In these cases the infection had a faster onset, surgery with evacuation of infected necrosis took place in the 18th, respectively in the 11 th day of hospitalization.

With the path of microbial contamination of necrosis uncertain, these results confirm the existence of the intraperitoneal route, through the break fluid. It is a valuable adjuvant to therapist in the absence of other performance diagnostic methods (puncture imaging guided) or when other methods (blood cultures) are inoperative in useful time. Labor is particularly valuable as it can catch enteric germs of peritoneal fluid before/prior fitting them/ their attachment to the necrosis and abscess formation. In addition, labor is a simple, non-hazardous and provide quick results that guides the formation of antibiotherapy in the early stages of infection. It is logical to assume that the success rate increases proportionally with precocity institution and lasting maintenance of peritoneal lavage.

Blood glucose at admission is a controversial early marker of severity of acute pancreatitis. The behavior of glucose in PA was studied on 125 subjects, group formed in the base sample of which were cases with known diabetes. By statistical calculation were determined glucose sensitivity and specificity in identifying PAS at different threshold values, starting with the 150mg/dl, often quoted in literature. The most acceptable compromise between sensitivity (78.12%) and specificity (78.68%) of method was obtained from a blood glucose value of 180mg/dl.

Statistical tests of correlation showed that blood glucose > 180mg/dl is correlated with severe forms of PA (index = 0.78) and organic dysfunction (index = 0.65). The relationship is weaker in combination with the risk of death (index = 0.42) and especially with the possibility of sepsis (index = 0.37). Facility determination and good prediction of severe forms of acute

pancreatitis and organic dysfunction of blood glucose are a good tool for early assessment of disease severity.

Interleukin-17 was discovered in 1993, the name is actually a family currently consisting of 6 members and 5 receptors. Its action is proinflammatory, being involved in a wide variety of diseases (psoriasis, lupus, multiple sclerosis, allograft rejection of kidney, cancer, etc.). The sensitivity and specificity in identifying severe forms of acute pancreatitis was 94.36% and 92.53%, higher interleukin 6 (91.54% and 89.55%), marker of severity of the disease.

Statistical tests of correlation showed that IL-17 is a good prognostic marker of PAS (correlation index = 0.86) and multiorgan dysfunction (correlation index = 0.77). It is also a good indicator of fatal evolution, the correlation being 0.54. However, predicting sepsis was lower (correlation index = 0.47). Dynamics investigation of IL-17 in PA showed that the changes of the serum and peritoneal concentration of this cytokine closely follow those of interleukin 6, which has close pathophysiological links.

Although laborious determinations have a disability that limited availability due to its performance, interleukin-17 is a valuable early prognostic marker in diagnosis of severe acute pancreatitis. Serum and peritoneal levels correlate with an increased risk of organic dysfunction and the fatal outcome.

CURRICULUM VITAE

A. Personal:

1. Name: Botoi Grigore
2. Date of birth: 15 th.july.1961, Braila, Braila County
3. Citizenship: Romanian
4. Marital status: Married, 2children

B. Education:

- 2005 - Present-PhD in medical sciences UMF "Iuliu Hatieganu" Cluj Napoca
1999 - Primary Doctor
1994 - Specialist, Speciality General Surgery
1990 - Admitted to the national contest of secundarios
1987-1990 - Doctor trainee County Hospital Baia Mare
1987 - Graduated from the Faculty of Medicine, Institute of Medicine and Pharmacy
Bucharest
1980 - Graduated high school "Nicolae Balcescu" in Braila

C. Member of professional associations:

- the College of Physicians,
The Romanian Society of Surgery

D. Foreign languages: French,, German, English

E. Detail of scientific activity

Courses

- 1998 - Course of laparoscopic surgery, Surgical Clinic III, Cluj Napoca
1996 - Course of Vascular Surgery, Rouen, France

Works published:

- „The early and extended peritoneal lavage and drainage by laparoscopic approach in severe acute pancreatitis". Chirurgia 1 / 2009
- "Interleukin-17 early predictive marker of severe acute pancreatitis". Chirurgia 4 / 2009
- „ Aneurysm of artery spleen "-Chirurgia no.1 / 2006
- „ Wounds liver by firearms "- Chirurgia no. 3 / 2000
- „ Hepatocarcinom with particular evolution "- Chirurgia, nr.3/1999
- „ Diagnostic and therapeutic aspects in liver trauma" National Medical Magazine, no. 4 / 1998

Works communicated:

National Congress of Surgery Eforie Nord 2008

- "Early peritoneal lavage and drainage and prolonged by surgery in severe acute pancreatitis "
- "Interleukin-17 early predictive marker of severe acute pancreatitis"

Medical and surgical news in oncology, Baia Mare, 2001

- „, Neoplasia in the activity section of the Hospital General Surgery Baia-Mare County "
- "Our experience in surgical treatment of gastric cancer"
- "Emergency Surgical treatment of colorectal cancer"
- "Thyroid cancer"
- „, Cholecystectomy-risk factor for colorectal cancer? "
- „, Primitive Varicose and recurrent lower limb "

Intercounty Meeting on Hepatobiliopancreatic Surgery, Baia Mare, 1999

- "Economic and comparative aspects of classical and laparoscopic cholecystectomy"
- " Scar abdomen in laparoscopic surgery scar "

Intercounty Conference of General Surgery, Baia Mare, 1996

- „, Ileocolorectal injuries "
- „, Model in optimal algorithm in approaching stomizat patient "
- 'Experience in the technical section Laparoscopic Surgery "

National Congress of Surgery-1995

- „, Thyroid surgical pathology "