

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA

**PANCREATITE AGUDA EXPERIMENTAL  
INDUZIDA PELA ARGININA  
AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E BIOQUÍMICA**

**Odery Ramos Júnior**

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para concorrer ao Título de Mestre pelo Curso de Pós-Graduação em Medicina – Área de Concentração em Gastroenterologia.

**Porto Alegre  
1998**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA

**PANCREATITE AGUDA EXPERIMENTAL  
INDUZIDA PELA ARGININA  
AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E BIOQUÍMICA**

**Odery Ramos Júnior**

Dissertação de Mestrado apresentada à  
Faculdade de Medicina da Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul para concorrer  
ao Título de Mestre pelo Curso de Pós-  
Graduação em Medicina – Área de  
Concentração em Gastroenterologia.

Orientador

**Prof. Dr. OLIVAL RONALD LEITÃO**

Co-orientador

**Prof. Dr. JOÃO CARLOS DOMINGUES  
REPKA**

**Porto Alegre  
1998**

R175 Ramos Júnior, Odery  
Pancreatite aguda experimental induzida pela arginina: avaliação histológica e bioquímica / Odery Ramos Júnior; orientador Olival Ronald Leitão; co-orientador João Carlos Domingues Repka. / Porto Alegre, 1998. 61 p. ilustr.

Dissertação (Mestrado – Curso de Pós-Graduação em Medicina – Área de concentração em Gastroenterologia) Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

1. Pancreatite. 2. Doença Aguda. 3. L-Arginina. 4. Bioquímica (Enzimas Pancreáticas). 5. Histologia. 6. Ratos Wistar. 7. Modelos animais de pancreatite. I. Título.

CDD 616.37  
CDU 616.37

***Dedico este trabalho,***

*À **Sandra**, minha esposa,  
um misto de coragem e  
determinação.*

*À **Guilherme e Gabriela**,  
frutos de amor, alegrias de  
vida e esperança no  
futuro..*

*À minha **Mãe**, pela vida e  
pelo exemplo.*

## *AGRADECIMENTOS*

*Ao Professor Doutor Olival Ronald Leitão, meu professor, meu colega, meu amigo, pela motivação e apoio oferecido à minha formação profissional e por estar presente em mais uma etapa, orientando este projeto.*

*Ao Professor Doutor Sérgio Gabriel da Silva Barros, coordenador do curso de Pós-Graduação, pela especial acolhida, pelo entusiasmo constante e apoio durante o período de pós-graduação e realização deste estudo.*

*Ao Professor Doutor João Carlos Domingues Repka, meu co-orientador, pelas sugestões e ensinamentos, conduzindo meu trajeto de iniciante na área experimental.*

*Ao Professor Luiz Martins Collaço, pela receptividade e colaboração na interpretação dos aspectos histológicos, considerados neste trabalho.*

*Ao Professor Doutor Eduardo Antônio André, pela amizade, apoio e sugestões na elaboração deste trabalho.*

*Ao Professor Doutor Cleber Dario Pinto Krueh, pelo apoio durante a pós-graduação e por sua contribuição na análise deste trabalho.*

*A Professora Doutora Norma Marroni, por suas críticas construtivas e importantes considerações para a redação final deste projeto.*

*Aos Professores e Colegas do Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela amizade e companheirismo.*

*Aos Funcionários da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo carinho com que recebem todos os alunos.*

*À Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná, oferecendo-me condições para a execução da experimentação no Laboratório de Microbiologia e Imunologia.*

## SUMÁRIO

	<b>RESUMO</b> .....	v
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
2	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	4
2.1	MODELOS INVASIVOS DE PANCREATITE .....	5
2.2	MODELOS NÃO INVASIVOS DE PANCREATITE AGUDA.....	7
3	<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	12
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
4.1	ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO.....	13
4.1.1	<b>Caracterização da Amostra</b> .....	13
4.1.2	<b>Ambiente de Experimentação</b> .....	13
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	14
4.3	INJEÇÃO DA L-ARGININA .....	15
4.3.1	<b>Preparo da Solução</b> .....	15
4.3.2	<b>Injeção por Via Intraperitoneal</b> .....	15
4.4	COLETA DE AMOSTRAS E SACRIFÍCIO DE ANIMAIS .....	16
4.4.1	<b>Análises Laboratoriais</b> .....	16
4.4.2	<b>Análise Histológica</b> .....	18
4.4.3	<b>Análise Estatística</b> .....	20
5	<b>RESULTADOS</b> .....	22
5.1	NÍVEIS DE AMILASE.....	23
5.2	NÍVEIS DE LIPASE .....	27

5.3	EXAMES HISTOLÓGICOS .....	30
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	37
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	47
	<b>ANEXOS</b> .....	48
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	53
	<b>SUMMARY</b> .....	61



## LISTA DE FIGURAS

1	INJEÇÃO INTRAPERITONEAL DE ARGININA.....	16
2	PUNÇÃO CARDÍACA TRANSTORÁCICA PARA COLETA DE SANGUE E ANÁLISE BIOQUÍMICA .....	17
3	DISSECÇÃO DO PÂNCREAS PARA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA ....	18
4	PÂNCREAS DE UM ANIMAL 6 HORAS APÓS INJEÇÃO DE ARGININA .....	33
5	MICROSCOPIA ÓPTICA DO PÂNCREAS 24 HORAS APÓS INJEÇÃO DE ARGININA.....	34
6	QUADRO HISTOLÓGICO 72 HORAS APÓS INJEÇÃO DE ARGININA.....	35
7	REGENERAÇÃO DO PÂNCREAS APÓS 14 DIAS DE INJEÇÃO DE ARGININA.....	36

## LISTA DE TABELAS

1	NÍVEIS DE AMILASE: MÉDIAS, DESVIOS PADRÃO VALORES DE $p$ NAS COMPARAÇÕES DE GRUPOS .....	23
2	RESULTADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS NA COMPARAÇÃO DOS VALORES DE AMILASE AO LONGO DOS MOMENTOS, NO GRUPO EXPERIMENTO .....	25
3	NÚMERO DE CASOS VÁLIDOS, MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DOS GRAUS DE LIPASE NO GRUPO EXPERIMENTO .....	27
4	RESULTADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS NA COMPARAÇÃO DOS VALORES DE LIPASE AO LONGO DOS PERÍODOS, NO GRUPO EXPERIMENTO .....	28
5	FREQUÊNCIA DE CASOS OBSERVADOS EM ORDEM SEGUNDO A GRAVIDADE NO EXAME HISTOLÓGICO NO GRUPO EXPERIMENTO .....	30
6	RESULTADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS NA COMPARAÇÃO DOS GRAUS MÉDIOS AO LONGO DOS PERÍODOS, NO GRUPO EXPERIMENTO .....	32

## RESUMO

### PANCREATITE AGUDA EXPERIMENTAL INDUZIDA PELA ARGININA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E BIOQUÍMICA

Avaliaram-se as características bioquímicas e histológicas de um modelo experimental de pancreatite aguda necrotizante induzida por doses excessivas de arginina em ratos. A amostra constituiu-se de 105 ratos machos, da linhagem Wistar. Aos ratos do grupo experimento (n=70) administrou-se injeção intraperitoneal de 500mg/100g de peso corporal de L-Arginina dividida em doses iguais e injetada em duas etapas com intervalos de 15 minutos. No grupo controle (n=35), foi injetado solução salina isotônica por via intraperitoneal. Foram analisados 10 animais do grupo experimento e 5 do grupo controle em cada período de 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 7 dias, 14 dias. Coletou-se sangue para exames laboratoriais e o pâncreas para análise em microscopia óptica. Doze a vinte e quatro horas após a injeção de arginina, os níveis séricos de amilase e lipase alcançaram valores máximos, comparados àqueles dos ratos

controle, decrescendo gradualmente, alcançou-os na 48<sup>a</sup> hora sendo significativamente menor após 72 horas e sete dias. A atividade enzimática retornou a níveis basais após 14 dias. Os valores de amilase e lipase estavam normais em todos os tempos avaliados nos animais do grupo controle. À microscopia óptica, após injeção de arginina, observou-se arquitetura pancreática histologicamente preservada no período de 6 horas e evidenciando-se em 24 horas, importante edema intersticial. Após quarenta e oito horas, a arquitetura acinar estava parcialmente destruída com necrose celular focal atingindo sua máxima severidade ao ultrapassar-se 72 horas. No sétimo dia a necrose acinar e o edema haviam diminuído, iniciando-se a regeneração da arquitetura acinar. Observou-se a reconstrução estrutural pancreática após 14 dias. No grupo controle não foram encontradas alterações pancreáticas. Demonstrou-se que a Pancreatite Aguda Experimental induzida por L-Arginina é um modelo não invasivo, tecnicamente acessível, que induz a necrose pancreática. Apresenta evolução autolimitada, com recuperação do parenquimatosa e função pancreática em duas semanas.

## 1 INTRODUÇÃO

O pâncreas é órgão importante na digestão dos alimentos, participando numa seqüência de eventos junto com o estômago, vesícula biliar, na produção de enzimas que viram não só a neutralização do ácido produzido pelo estômago, como também a digestão propriamente dita dos alimentos no intestino.

A pancreatite aguda é condição resultante do processo inflamatório agudo no pâncreas podendo apresentar-se como um distúrbio suave e autolimitado, ou sob a forma de doença grave de evolução muitas vezes fatal. (Warshaw, 1987; Sterr, 1989).

Na pancreatite aguda intersticial a mortalidade é, habitualmente, menor que 2%, porém na pancreatite necrotizante os índices atingem 10% quando há necrose estéril e podendo atingir 30% na infectada. (Bradley, 1993; Banks, 1984, 1993).

Recentes avanços diagnósticos como a colangiopancreatografia endoscópica, ressonância magnética, ultrassonografia e tomografia computadorizada,

possibilitaram a elucidação de diferentes etiologias e o aparecimento de novas alternativas terapêuticas. (Clavien et al., 1988; Neoptolomos et al., 1988; Fan et al., 1993).

Apesar desses progressos, ainda persistem dúvidas acerca de inúmeros aspectos da patogenia e fisiopatologia da doença e, portanto, da melhor terapêutica a ser adotada (Sterr, 1989; Banerjee, 1994). Idealmente, tais questões deveriam ser respondidas através de estudos da pancreatite aguda em seres humanos. Entretanto, freqüentemente é impossível, pois a etiologia, severidade e o curso clínico da pancreatite aguda são variáveis. Quando os pacientes são examinados pela primeira vez ou quando admitidos com pancreatite, a doença usualmente se encontra totalmente estabelecida e pouco pode ser esclarecido sobre as alterações celulares que induzem à necrose pancreática. Além disso, a topografia do pâncreas no espaço retroperitoneal dificulta o acesso para pesquisa detalhada.

Baseados nestes fatos, pesquisadores, há mais de 140 anos, têm buscado métodos de indução de pancreatite através de meios experimentais em diferentes espécies animais, utilizando modelos invasivos e não invasivos.

O modelo adequado deveria ser tecnicamente simples e possuir características evolutivas que

provoquem no animal alterações pancreáticas semelhantes àquelas observadas em seres humanos.

Com este propósito surgiu o interesse em avaliar um modelo de pancreatite aguda, facilmente executável, com baixa mortalidade e que permitisse estudar as alterações histológicas e bioquímicas durante a instalação, desenvolvimento e reparação do processo inflamatório pancreático.

Sendo considerável o número de publicações envolvendo pancreatite experimental, priorizou-se os trabalhos que descrevem os modelos não invasivos e optou-se como referência, pelo método que utiliza a L-Arginina, um aminoácido essencial, barato e disponível no comércio, que administrado por via intra-peritoneal, desencadeia pancreatite aguda necrotizante em ratos. (Tani et al., 1990).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Desde a primeira descrição das lesões pancreáticas agudas feita em 1681 por **Greise-lius**, numerosos modelos experimentais animais, foram desenvolvidos. Geralmente, estes modelos podem ser divididos em **invasivos** e **não invasivos**. (Lerch e Adler, 1994). Este termo indica se uma manipulação cirúrgica para a indução de pancreatite é requerida ou não, não se referindo à severidade da doença. Deve ser lembrado que todos os modelos de pancreatite em animais podem apenas simular a doença clínica, embora seu aspecto morfológico freqüentemente possa parecer com os dos seres humanos. Seu uso em estudos terapêuticos e fisiopatológicos tem, entretanto, contribuído para atual compreensão desta grave doença.



## 2.1 MODELOS INVASIVOS DE PANCREATITE

A maioria dos modelos de pancreatite aguda em animais, procura se assemelhar, a situação clínica de pancreatite aguda induzida por cálculos da vesícula biliar. Esta variedade de doença desencadeada pela migração do cálculo vesicular, através do trato biliar ao duodeno é relativamente freqüente. (Acosta & Ledema, 1974). Três diferentes mecanismos têm sido sugeridos, através dos quais os cálculos em sua passagem pelo trato biliar, podem causar pancreatite:

1. Os cálculos migram da vesícula biliar e ficam impactados na papila, causando obstrução do fluxo pancreático e da bile. Este canal comum poderia permitir à bile refluir para o ducto pancreático (Opie, 1901) causando, assim, pancreatite. Modelos em animais envolvendo injeção de bile ou componentes da bile no ducto pancreático, são baseados na hipótese do canal comum, inicialmente proposto por Eugene Opie. Sob o ponto de vista de perspectiva histórica, a primeira pancreatite experimental foi induzida por Claude Bernard, em 1856, que injetou mistura de bile e óleo de oliva no ducto pancreático, produzindo assim, pancreatite necrotizante.

Um fator crítico para a severidade da pancreatite induzida por este método, é a pressão da injeção com a qual a solução é aplicada. (Arendt, 1993). Um dos compostos melhor padronizado para este tipo de pancreatite, é o **taurocolato de sódio**. (Sum et al., 1970; Lanksch et al., 1989). A injeção de 0,2 ml de solução contendo taurocolato de sódio, induz pancreatite necrotizante com mortalidade associada de, aproximadamente, 71% no período de 72 horas. Atribui-se como princípio fisiopatológico mais importante, o efeito detergente dos ácidos biliares na membrana celular. (Aho & Nevalainen, 1980).

2. Quando os cálculos da vesícula biliar ficam impactados na papila, podem ocasionar obstrução do ducto pancreático. Essas alterações permitiriam extravasamento da secreção de enzimas no interstício pancreático. (Reber et al., 1979). Baseada nesta hipótese encontra-se grande parte dos modelos experimentais que empregam a ligação do ducto pancreático como evento fisiopatológico desencadeante.
3. A passagem de cálculos vesiculares, através da papila duodenal, poderia causar disfunção transitória ou permanente do esfíncter de Oddi. Através do esfíncter

incompetente, ocorreria refluxo do conteúdo duodenal através do ducto pancreático, danificando o pâncreas. (Stone et al., 1981). Estudos com bases fisiológicas recentes em seres humanos documentaram que a disfunção do esfíncter e conseqüente refluxo duodeno-pancreático após a passagem de cálculo vesicular, é improvável. (Hernandez & Lerch, 1993). Entretanto modelos animais que empregam a técnica do alça duodenal fechada (Pfeffer, 1957), baseados no refluxo da secreção duodenal para o interior do parênquima pancreático, simulam esta situação, experimentalmente.

Desta forma, permanece um verdadeiro desafio científico provar se o refluxo de bile ou a combinação da obstrução do ducto pancreático e biliar representa ou não, o evento crítico para a pancreatite aguda em seres humanos.

## 2.2 MODELOS NÃO INVASIVOS DE PANCREATITE AGUDA

A grande vantagem destes modelos não invasivos é de serem tecnicamente simples e reproduzíveis. Sua desvantagem reside no fato de que os mecanismos

fisiopatológicos envolvidos na indução da pancreatite não estão relacionados com a doença em humanos. Entretanto as características morfológicas e bioquímicas destes modelos assemelham-se àquelas encontradas nos indivíduos com pancreatite. Além disso, os modelos não invasivos mostram-se efetivos na pesquisa dos regimes terapêuticos.

Em 1895, Mouret relatou que a excessiva estimulação neuronal poderia induzir à vacuolização em células acinares, e danificar o pâncreas exócrino. Desde então, o conceito de hiperestimulação do pâncreas, como princípio patogênico para indução da pancreatite, tem sido repetidamente empregado. O modelo melhor padronizado e caracterizado, é a pancreatite induzida pela ceruleína (análogo da pancreozimina-colecistoquinina), estabelecido por Lampel & Kern, 1977; Adler et al., 1979. A pancreatite induzida por secretagogos tem sido utilizada com sucesso em hamsters sírios (Adler et al., 1986), camundongos (Niederau et al., 1985) e cães (Renner & Wisner Jr, 1983) e, juntamente com o modelo induzido por dieta, sugerem uma patogênese alternativa de pancreatite através da qual o tripsinogênio é ativado dentro de grandes vacúolos pelas enzimas lisossomais como a catepsina B. A observação de que a dieta suplementada com

etionina, análogo etílico da metionina, pode induzir pancreatite foi, primeiramente, relatada em laboratório por Hans Popper. (Former & Popper, 1950). Posteriormente, a etionina foi empregada para induzir pancreatite em diversas espécies animais de experimentação. (De Almeida & Grossman, 1952). Lombardi, em 1975, observaram que se alimentando fêmeas jovens de camundongos com dieta deficiente em colina e suplementada com etionina, obtinha-se pancreatite necrotizante. Esta forma de doença mostra-se específica à espécie e ao sexo. Camundongos machos não desenvolvem pancreatite necrotizante, porém a administração de estrógenos faz com que esses animais fiquem suscetíveis à indução de pancreatite por dieta. (Rao et al., 1982).

Tani et al. em 1990, examinaram as características bioquímicas e histológicas de um novo modelo experimental de pancreatite aguda induzida por doses excessivas de arginina em ratos. Os ratos foram inoculados com uma única dose intraperitoneal de 500 mg/100 g de peso corpóreo de L-Arginina. Após 12 a 24 horas observaram-se níveis séricos de amilase, lipase e tripsinogênio aumentados 2, 5 e 20 vezes, respectivamente, àqueles dos ratos controle, retornando aos níveis normais após 24 a 48 horas . O conteúdo de

proteína pancreática, DNA e enzimas digestivas estavam marcadamente reduzidos após a inoculação de arginina e alcançaram seu ponto mais baixo em 72 horas. O retorno aos valores normais foram em período superior a 14 dias. Este modelo não invasivo mostrou ser de fácil reprodução e acessível quando comparado aos outros modelos experimentais. Doses excessivas de aminoácidos básicos como a lisina, metionina (Kaufman et al., 1960) e arginina (Kishino & Kawamura, 1984), têm capacidade de lesar o pâncreas de ratos, bem como retardar o crescimento de algumas neoplasias, embora seu mecanismo seja desconhecido. (Milner & Stepanovich, 1979). Minizuma et al, em 1984, demonstraram, pioneiramente, severas lesões pancreáticas causadas pelo excesso de arginina. O metabolismo protéico é mais ativo nas células acinares pancreáticas, e provavelmente, estas são os primeiros alvos na superdosagem, resultando em degeneração ou necrose. Segundo Kishino & Kawamura (1984) e Kishino et al. (1986), as alterações imediatas após a inoculação de arginina, caracterizaram-se por mudanças na estrutura mitocondrial, progressiva desorganização e degeneração do retículo endoplasmático das células acinares e redução do número de grânulos de zimogênio.

Recentemente, Delaney et al., (1993) descreveram novo modelo de atrofia pancreática usando injeções intraperitoneais seriadas de L-Arginina.

Saliente-se enfim, que para serem realizados modelos experimentais de pancreatite aguda, deve-se estar alerta sobre três possíveis condições: inicialmente, a patogênese poderia ser diferente entre o modelo animal e a doença em humanos; o animal poderia responder ao tratamento de forma diferente embora a doença fosse a mesma e finalmente, o tratamento deveria começar em período longo após a indução do modelo experimental, pois a pancreatite aguda em seres humanos apresenta-se clinicamente, 24 a 36 horas após o início do processo patológico no pâncreas. (Banerjee, 1994). Embora reconheça-se não se dispor de técnica experimental ideal de indução de pancreatite aguda, as informações que se obtém nesses modelos proporcionam considerável importância para compreensão de eventos fisiopatológicos, buscando-se formas de diagnóstico adequado e, principalmente, terapêutica mais específica para doença inflamatória aguda do pâncreas. (Lerch & Adler, 1994).

### 3 PROPOSIÇÃO

Avaliar um modelo de pancreatite aguda experimental, não invasivo, possível de ser reproduzido e que permita cumprir os seguintes objetivos:

- a. Descrever, avaliar e comparar estatisticamente, as alterações bioquímicas e histológicas da pancreatite aguda experimental em ratos Wistar, induzida pela L-Arginina.
- b. Definir o aspecto histológico encontrado na pancreatite aguda experimental em ratos Wistar, induzida pela L-Arginina.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

#### 4.1.1 Caracterização da Amostra

Utilizaram-se no experimento 105 ratos Wistar (*Rattus norvegicus* - Rodentia - Mammalia) machos, albinos não isogênicos, com peso compreendido entre  $182,4 \pm 12,6\text{g}$ , fornecidos pelo Biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná e manipulados conforme normas para trabalhos experimentais publicados no livro Pesquisa em saúde e Direitos dos Animais (Goldim & Raymundo, 1997).

#### 4.1.2 Ambiente de Experimentação

O experimento deste estudo foi executado no Laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

## 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Dividiu-se a amostra em 2 grupos, conforme demonstrativo abaixo:

Grupo	Objetivo	Aferições
I Teste	70 ratos que receberam por via intraperitoneal, solução de L-Arginina na dose de 500 mg/100g de peso corpóreo. Foram sacrificados em grupos de 10 animais respectivamente às 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 7 dias e 14 dias , a partir da inoculação. Destes animais eram coletadas amostras de sangue para determinações bioquímicas e fragmentos de pâncreas para análise histológica.	Dosagem de : - amilase - lipase  Retirada de pâncreas para histologia
II Contrôle	35 ratos que receberam por via intraperitoneal, o volume de solução fisiológica equivalente ao volume de solução de L-Arginina, aleatoriamente divididos em grupos de 5 animais, que eram sacrificados nos mesmos tempos do grupo teste, para dosagens bioquímicas e histologia de controle.	Dosagens de : - amilase - lipase  Retirada de pâncreas para histologia
<b>TOTAL</b>	<b>105 ratos</b>	<b>xxxxxxxx</b>

## 4.3 INJEÇÃO DA L-ARGININA

### 4.3.1 Preparo da Solução

Pesaram-se 20g de L-arginina (Merck® artigo 1.01542) diluindo-se em volume final de 100ml de solução fisiológica, ajustando-se o ph entre 6,8 - 7,4 com solução tampão de fosfatos. Esterilização em membranas de 0,22  $\mu$  (Millipore®). Preparo imediato antes do uso.

### 4.3.2 Injeção por Via Intraperitoneal

Ratos machos Wistar nutridos com alimentação específica para a espécie "ad libitum", eram distribuídos aleatoriamente em caixas de polipropileno identificadas, com 5 animais cada e que foram deixados em jejum durante a noite prévia ao experimento. Após pesagem, os animais receberam injeção intraperitoneal de 500 mg/100g de peso corporal de L-arginina (Figura 1). O volume total calculado foi dividido em doses iguais e injetado em duas etapas com intervalos de 15 minutos, em um dos quadrantes inferiores abdominais. Os ratos controle receberam o mesmo volume de solução fisiológica 0.15 M. Todos os

animais receberam alimentação à vontade após a injeção. Foram utilizadas seringas descartáveis e agulhas de 13x4.5 mm.



FIGURA 1- INJEÇÃO INTRAPERITONEAL DE ARGININA.

#### 4.4 COLETA DE AMOSTRAS E SACRIFÍCIO DE ANIMAIS

##### 4.4.1 **Análises Laboratoriais**

Para a coleta de sangue, os animais foram anestesiados por inalação com éter sulfúrico e cuba

plástica apropriada. A seguir foram colocados em decúbito dorsal e com seringa de 10 ml e agulha de 25 x 8 mm procedia-se à punção cardíaca transtorácica (Figura 2). O sangue coletado foi centrifugado a 700 rpm durante 10 minutos, separando-se a seguir o soro para as determinações bioquímicas, amilase através do método enzimático cinético a 405 nm e lipase pelo método turbidimétrico cinético, efetuadas em equipamento automatizado - Sistema COBAS - MIRA "S".



FIGURA 2- PUNÇÃO CARDÍACA TRANSTORÁCICA PARA COLETA DE SANGUE E ANÁLISE BIOQUÍMICA.

#### 4.4.2 Análise Histológica

Após a coleta de sangue, os animais foram recolocados em cuba sob inalação letal de éter sulfúrico. Posteriormente ao sacrifício, os animais foram submetidos a uma abertura ampla da cavidade abdominal sendo retirado o pâncreas para avaliação histológica (Figura 3).

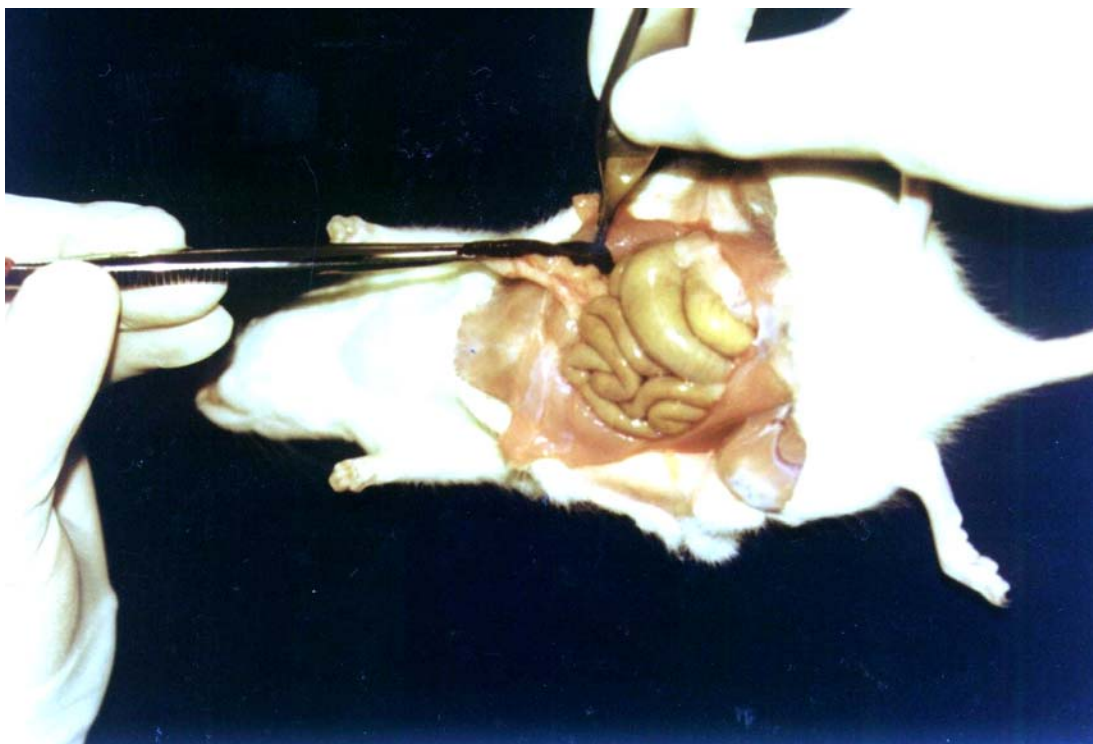


FIGURA 3- DISSECÇÃO DO PÂNCREAS PARA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.

O pâncreas retirado era colocado em formaldeído a 10% pelo período mínimo de 48 horas para adequada fixação. Secções foram feitas através do longo eixo da glândula, coradas com hematoxilina-eosina e examinados por microscopia óptica (Aho & Nevalainen, 1982). Todos os cortes histológicos foram examinados sem o conhecimento do grupo a que pertenciam e ao período em análise. Foram considerados os seguintes padrões histológicos: edema, infiltração inflamatória, hemorragia e necrose parenquimatosa (Tani et al., 1990; Schmidt et al., 1992). O padrão histológico foi definido de acordo com a presença e predominância das alterações microscópicas descritas no quadro 1.

QUADRO 1 - CRITÉRIOS HISTOLÓGICOS PARA A AVALIAÇÃO DA PANCREATITE

<b>Edema</b>	ausente	leve	moderada	severa
<b>Infiltração inflamatória</b>	ausente	leve	moderada	severa
<b>Necrose parenquimatosa</b>	ausente	leve (focal)	moderada (difusa)	severa (extra-parenquimatosa ; adiposa)
<b>Hemorragia</b>	ausente	leve	moderada	severa

Ao final do estudo de cada grupo, ordenaram-se os resultados da histologia, em escala arbitrária da situação menos grave à mais severa, conforme demonstrado no quadro 2.

QUADRO 2 - ESCALA DE AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DAS LESÕES PANCREÁTICAS

ORDENAÇÃO SEGUNDO A GRAVIDADE		EDEMA	NECROSE
AUSENTE	1	AUSENTE	AUSENTE
	2	LEVE	AUSENTE
LEVE	3	MODERADO	AUSENTE
	4	SEVERO	AUSENTE
	5	LEVE	LEVE
MODERADO	6	LEVE	MODERADA
	7	LEVE	SEVERA
	8	MODERADO	LEVE
	9	MODERADO	MODERADA
	10	MODERADO	SEVERA
GRAVE	11	SEVERO	LEVE
	12	SEVERO	MODERADA
	13	SEVERO	SEVERA

#### 4.4.3 Análise Estatística

Realizaram-se métodos estatísticos adequados para o tamanho da amostragem dos grupos. Nas comparações entre



dois grupos independentes, o teste aplicado foi o de Mann-Whitney e quando da comparação de mais de dois grupos independentes, o teste aplicado foi o de Kruskal-Wallis. Em todos os testes foi adotado o nível de significância de  $p \leq 5\%$ .

## 5 RESULTADOS

É apresentada a seguir a análise estatística dos resultados encontrados para os níveis de amilase e lipase e para os exames histológicos realizados no Grupo Controle (n=35), 5 em cada momento e no Grupo Experimento (n=70), 10 em cada momento. Considerando-se as características das amostras obtidas realizou-se análise através de testes não-paramétricos. (Siegel, 1956). Nas comparações entre dois grupos independentes (grupos controle e experimento) o teste aplicado foi o de Mann-Whitney. Nas comparações para mais de dois grupos (entre os momentos dentro de cada grupo) o teste foi o de Kruskal-Wallis. Em todos os testes considerou-se o nível de significância de  $\leq 5\%$ . Os gráficos são apresentados para ilustrar os resultados obtidos.

## 5.1 NÍVEIS DE AMILASE

Com o objetivo de avaliar, em cada momento, a existência ou não de diferença nos níveis de amilase entre os grupos Controle e Experimento, testou-se a hipótese nula de que o nível médio de amilase no grupo experimento seria igual ao nível médio de amilase no grupo controle, versus a hipótese alternativa de que estes níveis seriam diferentes. Na Tabela 1 são apresentados, para cada grupo e em cada momento analisado, as médias, os desvios padrão e os valores de p obtidos através da aplicação do teste de Mann-Whitney. Estão em negrito os valores de p que indicam a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5%.

TABELA 1 - NÍVEIS DE AMILASE: MÉDIAS, DESVIOS PADRÃO E VALORES DE p NAS COMPARAÇÕES DE GRUPOS

PERÍODOS	GRUPO		Valor de p
	CONTROLE	EXPERIMENTO	
	Média ± DP*	Média ± DP	
6 horas	984.2 ± 77.6	5238.2 ± 1863.6	<b>0.0022</b>
12 horas	932.2 ± 164.7	8647.1 ± 3313.8	<b>0.0022</b>
24 horas	977.6 ± 88.1	3327.2 ± 1032.7	<b>0.0022</b>
48 horas	1022.4 ± 89.9	1025.9 ± 171.1	0.9025
72 horas	1042.4 ± 114.8	707.6 ± 151.0	<b>0.0048</b>
7 dias	1074.0 ± 152.5	796.3 ± 93.2	<b>0.0084</b>
14 dias	1054.2 ± 84.8	1011.7 ± 66.8	0.1779

\*DP : Desvio Padrão

Observa-se que na avaliação realizada nos períodos de 6, 12, 24, 72 horas e 7 dias, as médias dos valores de amilase nos grupos Controle e Experimento são significativamente diferentes ao nível de 5%.

Para o grupo Controle, com o objetivo de avaliar a existência ou não de diferença nos níveis médios de amilase nos períodos estabelecidos, testou-se a hipótese nula de que os níveis médios de amilase seriam iguais em todos os momentos considerados, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos momentos apresentaria nível médio de amilase diferente dos demais. O teste aplicado foi o de Kruskal-Wallis, para o qual obteve-se o valor de  $p = 0,5213$ . Desta forma, no nível de significância de 5%, não se rejeitou a hipótese nula e concluiu-se que os valores médios de amilase não foram significativamente diferentes ao longo dos momentos considerados no estudo.

Esta mesma análise quando realizada para o grupo Experimento resultou em valor de  $p < 0,0001$ , indicando a rejeição da hipótese nula ao nível de significância de 5%, ou seja, em pelo menos um dos momentos analisados o nível médio de amilase foi significativamente diferente dos níveis médios de amilase nos demais momentos. Com a finalidade de investigar-se estas diferenças, para cada

par de momentos consecutivos, testou-se a hipótese nula de que os níveis médios de amilase seriam iguais, versus a hipótese alternativa de valores médios diferentes. A Tabela 2 apresenta os resultados dos valores de p encontrados para cada uma das comparações através do teste de Mann-Whitney. Estão em negrito os valores de p que indicam a rejeição da hipótese nula ao nível de significância de 5%.

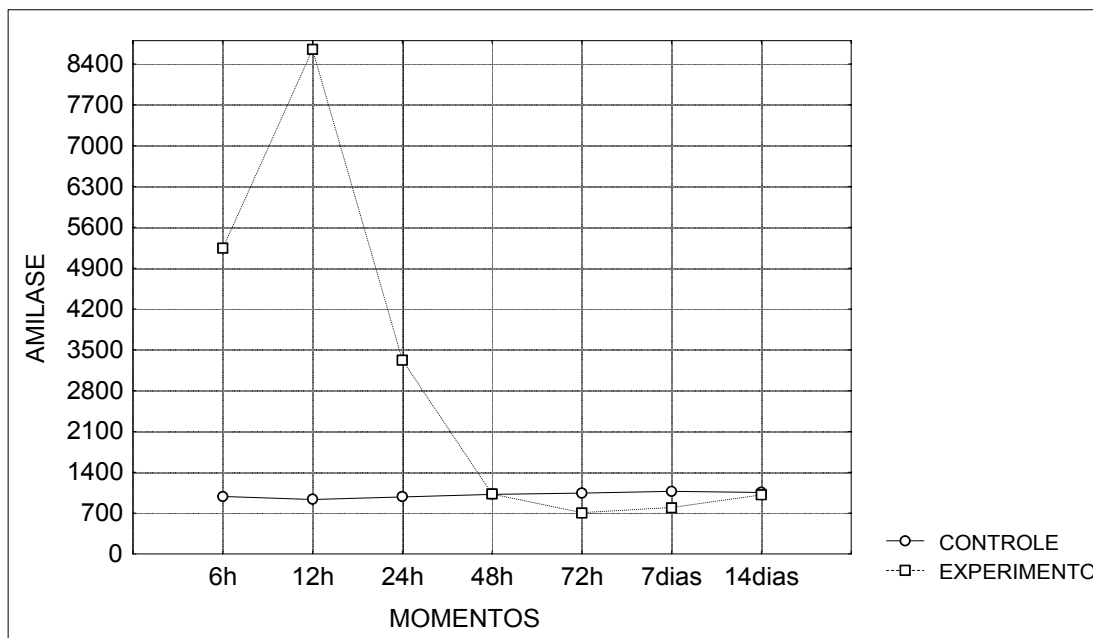
TABELA 2 - RESULTADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS NA COMPARAÇÃO DOS VALORES DE AMILASE AO LONGO DOS MOMENTOS, NO GRUPO EXPERIMENTO

PERÍODOS EM COMPARAÇÃO	VALOR DE p
6 X 12 horas	<b>0.0101</b>
12 X 24 horas	<b>0.0002</b>
24 X 48 horas	<b>0.0002</b>
48 X 72 horas	<b>0.0007</b>
72 horas X 7 dias	0.1121
7 dias X 14 dias	<b>0.0004</b>

Observa-se que, ao nível de significância de 5%, com exceção da comparação entre 72 horas e 7 dias, houve diferença significativa nos níveis médios de amilase em todas as comparações de períodos consecutivos.

O Gráfico 1 apresenta a evolução dos valores médios de amilase ao longo dos períodos analisados nos dois grupos. No Anexo 1 são apresentados gráficos das médias e intervalos de  $\pm$  um desvio padrão em torno das médias para cada período considerado, ilustrando a comparação entre as médias dos níveis de amilase dos grupos Controle e Experimento. Restritos a cada um dos grupos, são apresentados, também, gráficos correspondentes às médias  $\pm$  um desvio padrão em todos os períodos do estudo.

GRÁFICO 1 – MÉDIAS DOS NÍVEIS DE AMILASE NOS GRUPOS CONTROLE E EXPERIMENTO EM CADA TEMPO DO ESTUDO



## 5.2 NÍVEIS DE LIPASE

No grupo Controle não se observou nível de Lipase maior ou igual a 1. Para o grupo Experimento, são apresentados na Tabela 3 o número de casos válidos, a média e o desvio padrão dos níveis de Lipase obtidos em cada período.

TABELA 3 - NÚMERO DE CASOS VÁLIDOS, MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DOS NÍVEIS DE LIPASE NO GRUPO EXPERIMENTO

PERÍODOS	CASOS VÁLIDOS	MÉDIA ± DP*
6 horas	1	2.0
12 horas	10	80.3 ± 88.7
24 horas	10	150.3 ± 87.2
48 horas	10	56.7 ± 46.0
72 horas	5	2.0
7 dias	1	1.0
14 dias	1	1.0

\*DP: Desvio Padrão

Com o objetivo de avaliar a existência ou não de diferenças nos níveis de lipase ao longo dos períodos considerados no estudo, testou-se a hipótese nula de que os níveis médios de lipase seriam iguais em todos os períodos analisados, versus a hipótese alternativa de que

pelo menos um dos períodos apresentaria nível médio de lipase diferente dos demais. O teste aplicado foi o de Kruskal-Wallis, para o qual obteve-se um valor de  $p < 0,0001$ . Desta forma, rejeita-se a hipótese nula ao nível de significância de 5%. Com a finalidade de investigar as diferenças, para cada par de períodos consecutivos, testou-se a hipótese nula de que os níveis médios de lipase são iguais, versus a hipótese alternativa de níveis médios diferentes. Na Tabela 4 são apresentados os resultados dos valores de  $p$  para cada uma das comparações efetuadas através do teste de Mann-Whitney, tendo sido considerados 10 casos em cada um dos períodos.

TABELA 4 - RESULTADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS NA COMPARAÇÃO DOS VALORES DE LIPASE AO LONGO DOS PERÍODOS, NO GRUPO EXPERIMENTO

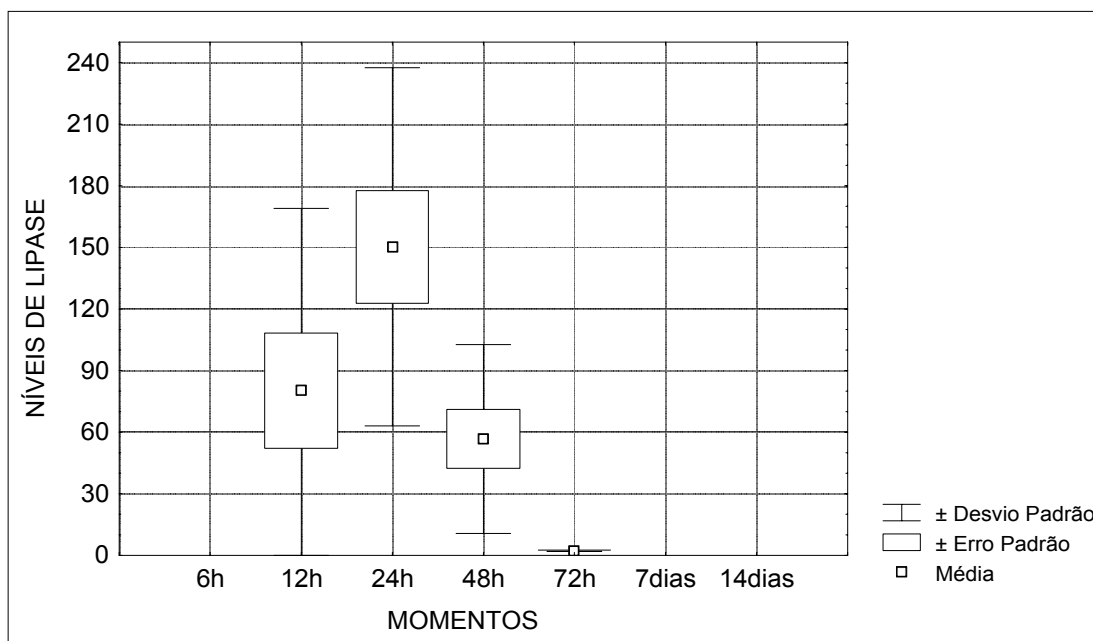
PERÍODOS EM COMPARAÇÃO	VALOR DE $p$
6 X 12 horas	<b>0.00007</b>
12 X 24 horas	<b>0.0343</b>
24 X 48 horas	<b>0.0032</b>
48 X 72 horas	<b>0.0018</b>
72 horas X 7 dias	<b>0,0339</b>
7 dias X 14 dias	1.0000



Os valores em **negrito** correspondem a situações onde houve diferença significativa no nível de significância de 5%. Observa-se que, com exceção da comparação entre 7 dias e 14 dias, houve diferença significativa nos níveis médios de lipase em todas as comparações de momentos consecutivos.

O Gráfico 2 apresenta as médias e intervalos de + ou - um desvio padrão em torno das médias para cada período considerado.

GRÁFICO 2 – NÍVEIS MÉDIOS DE LIPASE NO GRUPO EXPERIMENTO



### 5.3 EXAMES HISTOLÓGICOS

Para a análise dos exames histológicos no grupo Experimento ordenaram-se os resultados de acordo com as diversas combinações dos níveis de gravidade de edema e necrose, da situação menos grave para a mais grave (de 1 a 13) determinando-se estas ordenações por graus. Os números de casos observados segundo esta ordenação e os graus médios em cada período do estudo são apresentados na Tabela 5.

TABELA 5 - FREQUÊNCIA DE CASOS OBSERVADOS EM ORDEM SEGUNDO A GRAVIDADE NO EXAME HISTOLÓGICO NO GRUPO EXPERIMENTO

ORDENAÇÃO SEGUNDO A GRAVIDADE (GRAUS)		6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	7 dias	14 dias
Ausente	1	10						9
	2		8	1			3	1
Leve	3		2	3				
	4							
	5				1			
Moderado	6				3			
	7					1		
	8			3	1			
	9				4	3	6	
	10				1	2	1	
Grave	11			3				
	12							
	13					4		
GRAUS MÉDIOS		1	2.2	6.8	7.7	10.6	7.0	1.1

Buscando-se avaliar a existência ou não de diferença entre os momentos nos exames histológicos, testou-se a hipótese nula de que não haveria diferença entre os graus médios em todas as fases versus a hipótese alternativa de que pelo menos um dos momentos apresentaria grau médio diferente dos demais. O teste aplicado foi o de Kruskal-Wallis sendo obtido um valor de  $p < 0,0001$ . Desta forma, rejeita-se a hipótese nula ao nível de significância considerado. Assim, pode-se concluir que houve pelo menos um tempo que apresentou aspecto histológico diferente entre os animais em estudo. A fim de investigar-se as diferenças entre os períodos, testou-se, para cada par de períodos consecutivos, a hipótese nula de que os graus médios seriam iguais, versus a hipótese alternativa de graus médios diferentes. Na Tabela 6 são apresentados os resultados dos valores de  $p$  para cada uma das comparações efetuadas através do teste de Mann-Whitney. Os valores em **negrito** correspondem às situações onde  $p \leq 5\%$ .

TABELA 6 - RESULTADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS NA COMPARAÇÃO DOS GRAUS MÉDIOS AO LONGO DOS TEMPOS, NO GRUPO EXPERIMENTO

PERÍODOS EM COMPARAÇÃO	VALOR DE p
6 X 12 horas	0.00003
12 X 24 horas	0.00010
24 X 48 horas	0.9695
48 X 72 horas	0.0024
72 horas X 7 dias	0.0186
7 dias X 14 dias	0.00014

Analisando os resultados dos testes e os graus médios, observa-se que a situação histológica agrava-se significativamente a partir de 6 horas até 24 horas. De 24 horas a 48 horas, não se observou diferença significativa nos aspectos histológicos. A histologia demonstrou aspecto de agravamento no período compreendido entre 48 e 2 horas e melhora progressivamente do 3º dia para 7 dias e 14 dias.

O Gráfico 3 apresenta os graus médios (gravidade) relativos ao exame histológico para cada um dos momentos do estudo.

GRÁFICO 3 – GRAUS MÉDIOS RELATIVOS À GRAVIDADE DO EXAME HISTOLÓGICO NO GRUPO EXPERIMENTO

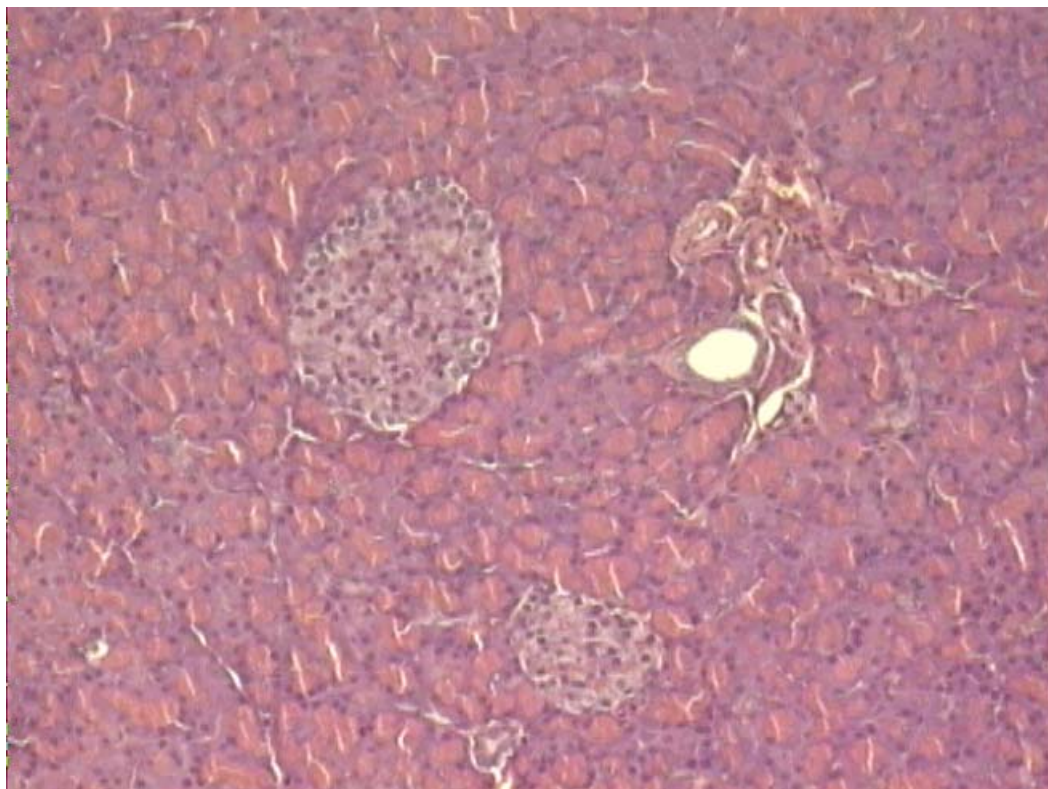
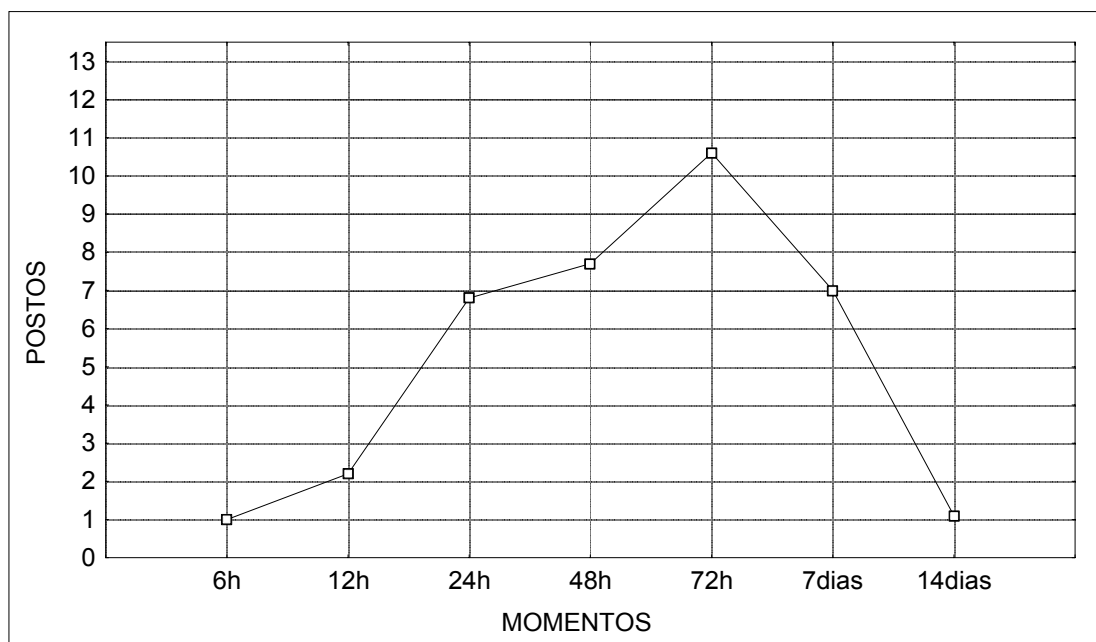


FIGURA 4 - PÂNCREAS DE UM ANIMAL 6 HORAS APÓS INJEÇÃO DE ARGININA. A ARQUITETURA GLANDULAR ESTÁ HISTOLÓGICAMENTE PRESERVADA (H & E x 100)

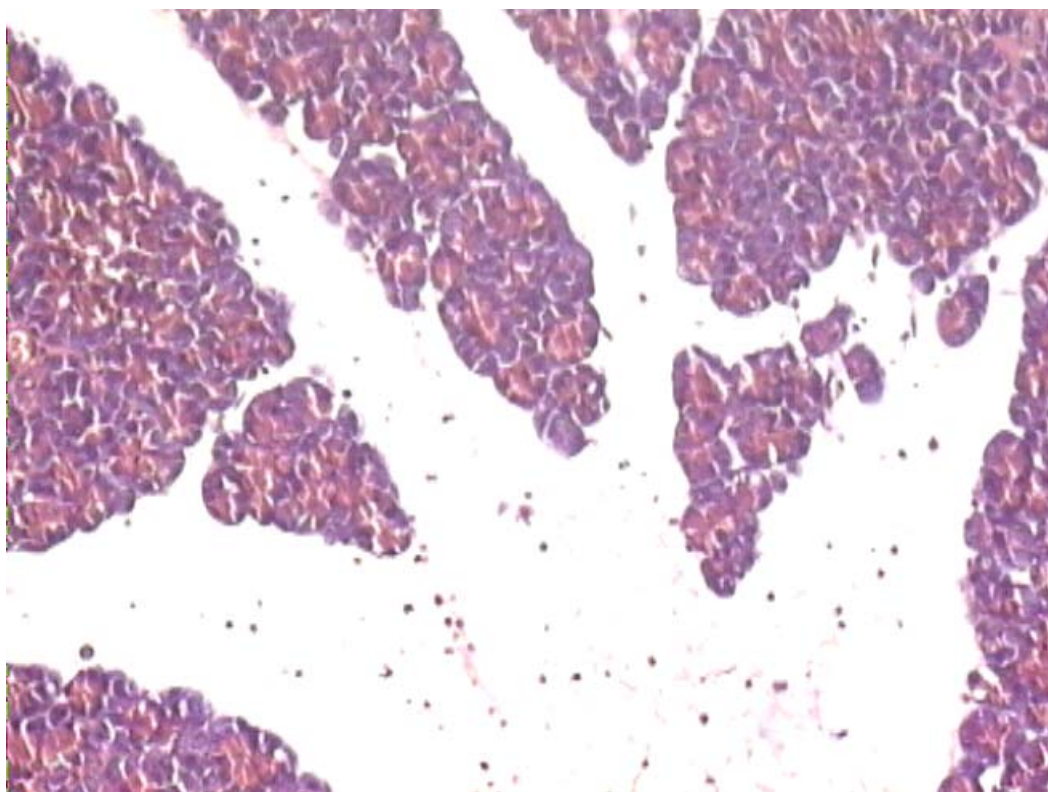


FIGURA 5 - MICROSCOPIA ÓPTICA DO PÂNCREAS 24 HORAS APÓS INJEÇÃO DE ARGININA. A ESTRUTURA GLANDULAR ESTÁ PARCIALMENTE ALTERADA POR EDEMA INTERSTICIAL E INFILTRADO INFLAMATÓRIO (H & E x 100)

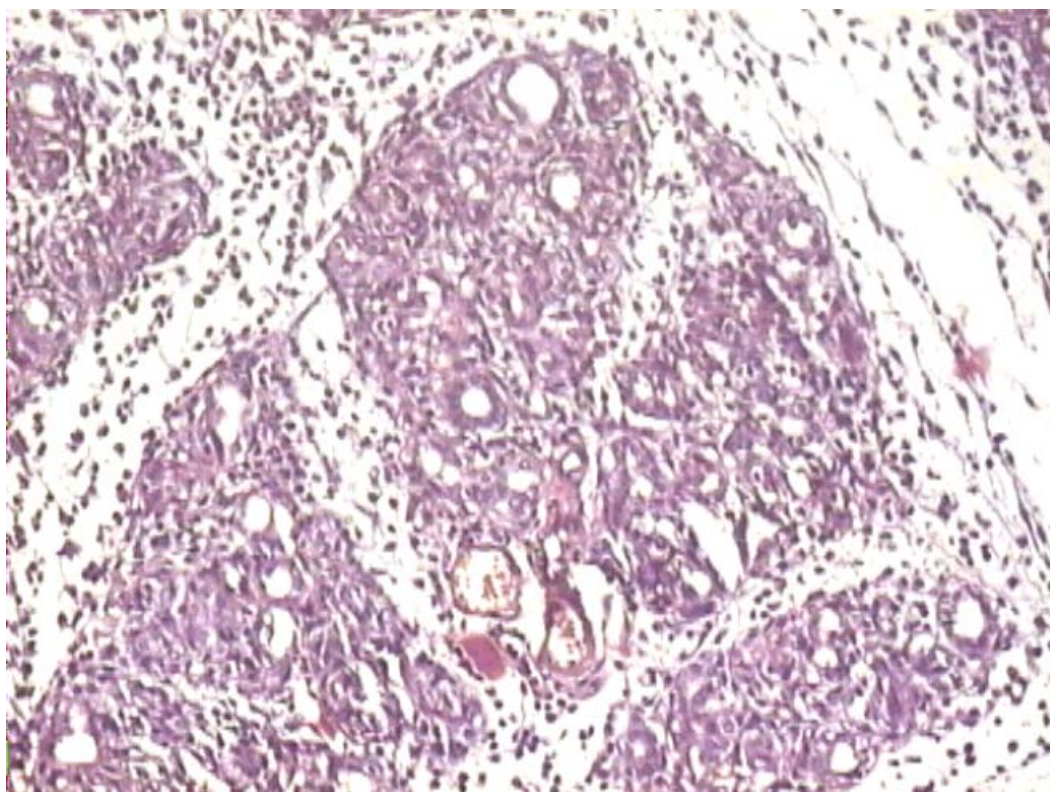


FIGURA 6-QUADRO HISTOLÓGICO 72 HORAS APÓS INJEÇÃO DE ARGININA. MARCANTE ALTERAÇÃO NO PARÊNQUIMA PANCREÁTICO. EXTENSA DEGENERAÇÃO OU NECROSE DE CELULAS ACINARES E INFILTRADO INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL (H & E x 100)



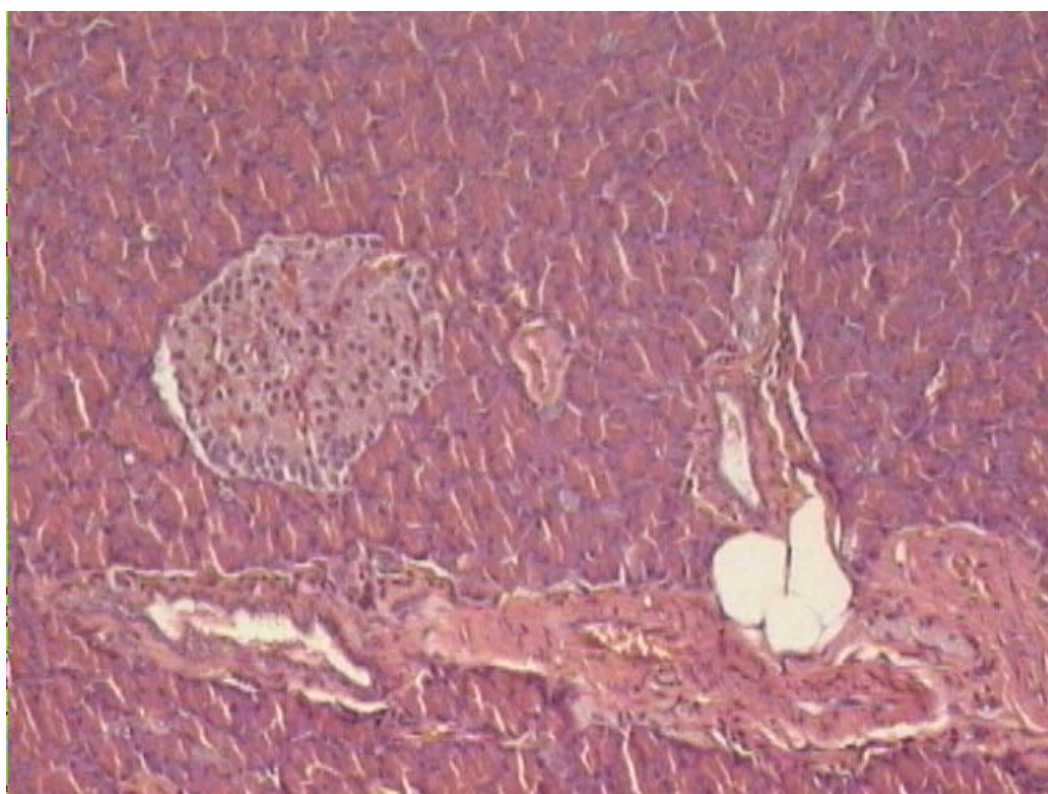


FIGURA 7- REGENERAÇÃO DO PÂNCREAS APÓS 14 DIAS DE INJEÇÃO DE ARGININA. DESAPARECIMENTO DO EDEMA INTERSTICIAL E NECROSE DE CELULAS ACINARES. ILHOTA DE LANGERHANS MORFOLOGICAMENTE PRESERVADAS (H & E x 100)



## 6 DISCUSSÃO

Há mais de um século empregam-se modelos de experimentação animal nas pancreatites agudas. Embora a relação entre a forma experimental de pancreatite aguda e as doenças pancreáticas inflamatórias nos seres humanos seja distinta, possibilita-nos melhor compreensão de eventos fisiopatológicos nela envolvidos, bem como aspectos de sua biologia celular.

Tani et al. (1990), demonstraram um novo modelo experimental de pancreatite aguda necrotizante em ratos induzida por uma única injeção intraperitoneal de arginina. Administrando-se doses superiores à 500mg/100g de peso corpóreo produzia letalidade em ratos poucas horas após a injeção, ao contrário doses de 250 mg/100g com as quais observava menor lesão pancreática. Em trabalhos anteriores, neste laboratório, observou-se que a injeção de L-arginina em dose única de 500mg/100g de peso corpóreo, em ratos pesando entre 350 450 gramas, produzia mortalidade em decorrência de trombose mesentérica. Assim a dose total foi dividida em duas

injeções com intervalo de 15 minutos e os ratos selecionados pesando desta vez 130 a 150 gramas, com o intuito de excluir-se tal intercorrência. Desta forma, evitou-se o efeito letal da L-arginina na mesma dose e via de administração descritas por Tani et al. (1990).

Este modelo não invasivo mostrou-se de fácil reprodução e acessível quando comparado a outros modelos experimentais de pancreatite aguda necrotizante, tais como a injeção retrógrada ductal (Aho et al., 1980) e o método da alça duodenal fechada. (Nevelainen & Seppa, 1975).

Pressupõe-se, que a ativação de enzimas no pâncreas, levando à autodigestão é de importância fundamental na patogênese da pancreatite aguda no homem e em animais de experimentação. (Gambiell, 1973; Dürr, 1978). Sob condições fisiológicas, a autodigestão é prevenida por mecanismos distintos de proteção bioquímica e estrutural dentro da célula pancreática exócrina. No rato estes mecanismos protetores são bem mantidos, mesmo depois de muitos dias de pronunciada estimulação secretória. (Bieger, 1976).

Sabe-se que doses excessivas de aminoácidos básicos, tais como a lisina (Kishino et al., 1986) e a metionina (Kaufman et al., 1960), assim como a arginina,

causam danos ao pâncreas do rato, embora o mecanismo seja desconhecido. A arginina inibe o crescimento e o desenvolvimento de tumores experimentais, como o fibrossarcoma UCLA e o sarcoma Jensen em ratos. (Levy et al., 1954). Estes estudos revelaram que excesso de arginina reduz a síntese poliamínica e, portanto, inibe o ácido nucleico e a síntese proteica. (Milner et al., 1979). Devido ao elevado metabolismo proteico nas células acinares pancreáticas, torna-se provável que as células acinares sejam o primeiro alvo do excesso de arginina, resultando em degeneração ou necrose.

A análise morfológica com microscopia eletrônica das células acinares revela predominantemente, modificações mitocondriais que se encontravam severamente danificadas. (Klavins, 1967; Kishino, 1986). Uma vez que a atividade mitocondrial produz energia pela síntese de ATP, suas desordens reduzem o suprimento celular energético, lesando organelas intracelulares e o núcleo. Esta desordem mitocondrial seria, portanto o primeiro sinal de ancreatite necrotizante induzida por excesso de arginina. Em contraste, a formação de vacúolos intracelulares contendo enzimas digestivas pancreáticas e hidrolases lisossomiais, são aspectos característicos da fase inicial de pancreatite aguda causada por estimulação

pela ceruleína em ratos (Watanabe et al., 1984) ou por dieta deficiente em colina e suplementada por etionina, em camundongos. (Koike et al., 1982).

Atualmente tem surgido interesse no fator vascular envolvido na patogenia da pancreatite aguda. Discute-se se a lesão necrotizante é causada por enzimas ou isquemias. Alterações no fluxo sanguíneo no fígado, pulmões, rins e pâncreas durante a pancreatite aguda grave estão bem documentadas. (André, 1988). Mais recentemente, observou-se o efeito regulador exercido pela L-arginina, como precursora do óxido nítrico, no sistema circulatório e, mesmo, pela regulação da circulação pancreática (Nakaki & Kato, 1994).

Liu et al. (1995), relataram que a pancreatite induzida por ceruleína era exacerbada após infusão do inibidor de síntese do óxido nítrico (L- NAME). Ao contrário a L-arginina reduziu a severidade da pancreatite sugerindo que o óxido nítrico protegeria contra o desenvolvimento de isquemias, possivelmente pelo aumento da microcirculação pancreática. Outros trabalhos sugerem que a hemoconcentração e a coagulação intravascular (Sanfey & Cameron, 1984; Klar et al., 1990; André, 1992), bem como radicais de oxigênio (Schoenberg

et al., 1989) contribuem no desenvolvimento da isquemia pancreática na pancreatite aguda.

O presente estudo, permitiu verificar na análise histológica após a injeção de L-arginina durante os períodos de 6, 12 e 24 horas, uma infiltração progressiva no interstício e tecido pancreático, de leucócitos polimorfonucleares, linfócitos e macrófagos. Após 6 horas da aplicação de L-arginina, não se observaram edema intersticial pancreático ou necrose de células acinares (Figura 4). À microscopia eletrônica das células acinares, neste período de inflamação aguda do pâncreas reconhecem-se alterações mitocondriais e do retículo endoplasmático das células acinares. (Tani et al., 1990). Após 12 horas, verificou-se edema intersticial com discreta infiltração de células inflamatórias e, decorridas 24 horas, evidenciaram-se ácinos separados por importante edema intersticial (Figura 5). No período entre 24 e 48 horas não ocorreram alterações histológicas significativas ( $p = 0,9695$ ).

Foi possível evidenciar-se que a partir do segundo dia, iniciaram-se focos de necrose nas células acinares e que a necrose comprometia grande parte do parênquima provocando desordem da arquitetura

pancreática, lesões de células acinares e intenso processo inflamatório agudo ao progredir de 72 horas. Nesta fase do estudo constatou-se que as células acinares pancreáticas haviam sido progressivamente destruídas, que os ductos pancreáticos encontravam-se dilatados e repletos de muco enquanto as ilhotas de Langerhans pareciam preservadas (Figura 6). O estudo histológico, sete dias após a aplicação de L-arginina, mostrou melhora considerável do edema e necrose pancreática. Embora devamos considerar as dificuldades em estimar a porcentagem de extensão da necrose tecidual, os baixos níveis de enzimas pancreáticas séricas nestes períodos sugerem significativa necrose das células acinares. Ao final do estudo observamos, pela histologia do 14º dia pós-injeção de L-arginina, que a arquitetura original pancreática havia sido restaurada (Figura 7).

Os achados histológicos de inflamação, necrose, e reparação do tecido pancreático no tempo considerado no presente estudo são concordantes com estudos experimentais sobre a regeneração pancreática previamente realizados. (Fitzgerald, 1960; Fitzgerald et al., 1968; Marsh et al., 1968).

Sabe-se que a atividade da amilase sérica não se correlaciona clinicamente com a severidade da pancreatite aguda, bem como as enzimas pancreáticas sorológicas não se correlacionam com às alterações histológicas observadas no pâncreas. (Schmidt et al., 1992). Em nosso estudo os níveis de amilase sérica permaneceram constantes nos animais do grupo controle, mas elevaram-se significativamente nos animais que receberam injeção de L-arginina. Todos os animais que receberam L-arginina intraperitoneal demonstraram aumento na atividade da amilase sérica, mais pronunciado no período de 12 horas e retornando aos níveis dos controles em 48 horas. Embora os níveis séricos de amilase e lipase tenham demonstrado maior elevação entre 12 e 24 horas após a injeção de L-arginina, a maioria das alterações severas, como a necrose de células acinares, foi encontrada em 72 horas. A significativa redução de síntese das enzimas pancreáticos, em período subsequente às 72 horas após indução de pancreatite, pode resultar em diminuição dos seus níveis séricos. (Tani et al., 1990).

De acordo com Tani et al. , (1990) neste estudo, os valores de amilase foram significativamente menores ( $p= 0.0084$ ) nos ratos do grupo com pancreatite quando comparados com o controle no período de 72 horas e que

retornaram aos níveis basais em duas semanas, acompanhando a regeneração pancreática como evidenciado pelos padrões histológicos neste período de evolução.

Estes achados permitem-nos referir que os níveis de amilasemia não se correlacionam diretamente com a gravidade da inflamação. Numerosas tentativas foram feitas no passado para avaliar a sensibilidade, especificidade e valores prognósticos da amilase sérica. (Moossa, 1984; Eckfeldt et al., 1985; Tietz et al., 1986; Robert et al., 1986; Agarwal et al., 1990; Gwozdz et al., 1990;). Apesar de diferentes opiniões (Dubick et al., 1987), a maior parte dos autores são concordes quanto à especificidade da elevação da amilase sérica, ser deficiente como valor de prognóstico da pancreatite aguda. (Moossa, 1984; Puolakkainen, 1988). Até mesmo a correlação inversa entre este parâmetro e a severidade da lesão pancreática aguda, como observada nos períodos de 72 horas e 7 dias, deste experimento, foram descritas e atribuídas ao declínio na capacidade de secreção quando o dano celular pancreático é severo (Adams et al., 1968; Clavien et al., 1989).

Pela sua enorme capacidade de secreção o pâncreas, é considerado o tecido humano que possui maiores valores de síntese proteica . Há razões para



aceitar-se que células acinares danificadas mas ainda viáveis possam causar maior e mais duradoura elevação da amilase sérica do que as células necróticas, incapazes de manterem a produção de enzimas. Esta análise é compatível com a observação de que os níveis mais altos de amilase sérica são encontrados nos modelos experimentais de pancreatite caracterizados por edema intersticial e morte mínima de células. (Gullick, 1973). No presente estudo e em concordância com estudo previamente realizado (Schmidt et al., 1992), o edema pancreático, que não é indicador de severidade, demonstrou melhor correlação com a hiperamilasemia, sendo que os índices usuais para o diagnóstico de pancreatite severa, como necrose acinar, apresentam correlação inadequada ou mesmo inversa com o nível da amilase sérica.

Enfatize-se que, embora a patôgenese da pancreatite aguda induzida pela L-arginina permaneça indefinida, a metodologia empregada neste modelo experimental, pela exequibilidade torna-se de utilidade como alternativa para averiguação de eventuais benefícios que possam ser obtidos com novas opções terapêuticas para a pancreatite aguda.

## 7 CONCLUSÕES

Provocando-se pancreatite aguda em ratos machos da raça Wistar, pela injeção intraperitoneal de L-arginina através da metodologia empregada e baseado nos resultados obtidos, concluiu-se que:

1. Os níveis séricos de amilase e lipase mostraram-se capazes de contribuir para o diagnóstico da pancreatite aguda, porém não se correlacionam com a gravidade das lesões pancreáticas.
2. A administração de L-arginina na dose 500mg/100g de peso corpóreo induziu pancreatite aguda necrotizante que por não ser fatal, permitiu avaliação de todas as fases da inflamação pancreática aguda, ou seja, desde sua instalação à regeneração do órgão.

## ANEXOS

### RESULTADOS DO GRUPO CONTROLE

CONTROLE - 6 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INFILTRA- DO INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORAGIA	NECROSE
1	952	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1101	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	950	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	900	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	1018	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

CONTROLE - 12 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	961	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1061	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	1034	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	956	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	649	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

CONTROLE - 24 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	963	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1120	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	968	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	960	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	877	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

CONTROLE - 48 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INFILTRA- DO INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORAGIA	NECROSE
1	886	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	985	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	1044	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	1110	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	1087	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

CONTROLE - 72 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	949	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1026	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	945	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	1226	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	1066	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

CONTROLE - 7 DIAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	1206	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1162	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	1097	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	815	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	1090	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

CONTROLE - 14 DIAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA- MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	1083	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1149	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	1048	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	918	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	1073	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

**Nota:** No grupo controle não se encontraram níveis de lipase  $\geq 1$ .

## RESULTADOS DO GRUPO EXPERIMENTAL

EXPERIMENTO - 6 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	4600	2	ausente	ausente	ausente	ausente
2	3500	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
3	8045	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	7600	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	6535	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
6	4060	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
7	7092	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
8	4031	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
9	3662	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
10	3257	<1	ausente	ausente	ausente	ausente

EXPERIMENTO - 12 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	4800	45	leve	leve	ausente	ausente
2	11034	88	leve	moderado	ausente	ausente
3	8045	17	leve	leve	ausente	ausente
4	12104	109	moderado	moderado	ausente	ausente
5	12735	268	moderado	moderado	leve	ausente
6	7614	49	leve	leve	ausente	ausente
7	7092	197	leve	leve	ausente	ausente
8	13032	102	leve	moderado	ausente	ausente
9	4780	15	leve	leve	ausente	leve
10	5235	25	leve	leve	ausente	leve

EXPERIMENTO - 24 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	3458	102	moderado	severo	ausente	leve
2	2034	65	moderado	moderado	ausente	leve
3	4789	212	moderado	moderado	ausente	leve
4	2104	155	moderado	moderado	ausente	ausente
5	4300	101	leve	moderado	ausente	ausente
6	3614	64	moderado	severo	ausente	leve
7	1738	250	moderado	moderado	ausente	ausente
8	3794	330	leve	leve	ausente	ausente
9	4032	114	moderado	severo	ausente	leve
10	3409	110	moderado	moderado	ausente	leve

EXPERIMENTO - 48 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	1210	34	moderado	moderado	ausente	leve
2	993	44	moderado	moderado	ausente	moderada
3	1116	45	leve	leve	ausente	moderada
4	1062	20	moderado	moderado	ausente	moderada
5	822	15	moderado	moderado	ausente	moderada
6	986	58	leve	leve	ausente	leve
7	899	71	leve	leve	ausente	moderada
8	825	37	moderado	moderado	ausente	moderada
9	978	66	leve	leve	ausente	moderada
10	1368	177	moderado	moderado	ausente	severa

EXPERIMENTO - 72 HORAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	629	2	moderado	moderado	ausente	severa
2	575	2	severo	severo	ausente	severa
3	428	<1	severo	severo	ausente	severa
4	658	<1	severo	severo	ausente	severa
5	681	2	moderado	moderado	ausente	severa
6	731	2	moderado	moderado	ausente	moderada
7	869	<1	moderado	moderado	ausente	moderada
8	960	<1	moderado	moderado	ausente	moderada
9	747	<1	severo	severo	ausente	severa
10	798	2	moderado	severo	ausente	severa

EXPERIMENTO - 7 DIAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	680	<1	moderado	moderado	ausente	severa
2	787	<1	moderado	moderado	ausente	moderada
3	875	<1	leve	leve	ausente	leve
4	747	<1	leve	leve	ausente	leve
5	901	1	moderado	moderado	ausente	moderada
6	960	<1	moderado	moderado	ausente	moderada
7	775	<1	leve	moderado	ausente	moderada
8	815	<1	moderado	moderado	ausente	moderada
9	673	<1	leve	leve	ausente	leve
10	750	<1	moderado	moderado	ausente	leve

EXPERIMENTO - 14 DIAS						
RATOS	LABORATORIO		HISTOLOGIA			
	AMILASE	LIPASE	INF.INFLA-MATORIO	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSE
1	998	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
2	1058	<1	ausente	leve	ausente	ausente
3	1040	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
4	1100	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
5	889	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
6	1030	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
7	915	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
8	1052	<1	leve	ausente	ausente	ausente
9	1055	<1	ausente	ausente	ausente	ausente
10	980	1	ausente	ausente	ausente	ausente

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

1. ACOSTA, J.L.; LEDESMA, C.L. Gallstone migration as a cause of acute pancreatitis. **N. Engl J Med**, v.290, p.484-487, 1974.
2. ADAMS, J.T. et al. Significance of an elevated serum amylase. **Surgery**, v.63, p.877-884, 1968.
3. ADLER, G. et al. Course and spontaneous regression of acute pancreatitis in the rat. **Virchows Archiv A Pathol Anat Histol**, v.382, p.31-47, 1979.
4. ADLER, G. et al. Experimental 2 models and concepts in acute pancreatitis. In: GO, V. N. L. et al. (ed.) **The Exocrine Pancreas: Biology, Pathobiology, Diseases**. New York: Raven, 1986.
5. AGARFAL, N. et al. Evaluating tests for acute pancreatitis. **Am J Gastroenterol.**, v.85, p.356-366, 1990.
6. AHO H.J. et al. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute hemorrhagic pancreatitis. **Scand J Gastroenterol.**, v.15, p.411-416, 1980.
7. AHO, H.J.; NEVALAINEN, T.J. Experimental pancreatitis in the rat. Light and Electron microscopical studies on early pancreatic lesions induced by Intraductal injection of trypsin, phospholipase A<sup>2</sup>, lysolecithin and non-ionic Detergent. **Virchows Arch B Cell Pathol**, v.40, p.347-356, 1982.

---

\* De acordo com NBR-6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1989.



8. **ANDRÉ, E.A. Alterações volêmicas na pancreatite aguda grave: estudo experimental em ratos.** São Paulo, 1988. 65p. Dissertação (Mestrado em Gastroenterologia Clínica) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
9. **ANDRÉ, E.A. Pancreatite Aguda experimental grave em ratos: avaliação da permeabilidade capilar com utilização de hemácias e albumina marcadas com cromo radioativo (<sup>51</sup> Cr) e de água triciada.** São Paulo, 1992. 65p. Tese (Doutorado em Gastroenterologia Clínica) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
10. **ARENDRT, T. Bile-induced acute pancreatitis in cats; roles of bile, bacteria and pancreatic duct pressure.** *Dig Dis Sic*, v.39, p.39-44, 1993.
11. **BANKS, P.A. Medical manegement of acute pancreatitis and Complications.** In: GO, V.L.W. et al.(ed.) **The exocrine pancreas: Biology, pathology and disease.** 2.ed. New York: Raven, 1993. p.593-611.
12. **BANKS, P.A. A new classification system for acute pancreatitis.** *Am J Gastroenterol*, v.89, n.89, p.151-152, 1994.
13. **BANERJEE, A.K. et al. Experimental models of acute pancreatitis.** *Brit J Surgery*, v.81, p.1096-1103, 1994.
14. **BANERJEE, A.K.; STEELE, R.J.C. Current views on the Pathophysiology of acute pancreatitis.** *GUT*, 1994. (in press).
15. **BERNARD, C. Leçons de Physiologie Experimentale.** Paris: Bailliere, 1856. p.278.
16. **BIEGER, W. et al. Studies on Intracellular transport of secretory proteins in the rat exocrine pancreas. IV. Stimulation by in vivo infusion of caerulein.** *Cell Tiss Res*, v.165, p.435-453, 1976. (a)

17. BIEGER, W. et al. Studies on intracellular transport of Secretory proteins in the rat exocrine pancreas. V. Kinetic studies on Accelerated transport following caerulein infusion in vivo. **Cell Tiss Res**, v.170, p.203-220, 1976. (b)
18. BRADLEY, E.L.III. A clinical based classification system for Acute pancreatitis. **Arch Surg**, v.128, p.586-90, 1993.
19. CLAVIEN, P.A. et al. Value of contrast computerized tomography in the early diagnosis and prognosis of acute pancreatitis. **Am J Surg**, v.155, p.457-466, 1988.
20. CLAVIEN, P.A. et al. Acute pancreatitis and Normoamylasemia. Not an uncommon combinatio. **Ann Surg**, v.210, p.614-620, 1989.
21. DE ALMEIDA, A.L.; GROSSMAN, M.I. Experimental production of pancreatitis with ethionine. **Gastroenterology**, v.20, p.554-577, 1952.
22. DELANEY, C.P. et al. Pancreatic atrophy: a new model using serial intra-peritoneal injections of L-arginine. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.28, n.12, p.1086-90, Dec. 1993.
23. DUBICK, M.A. et al. Digestive enzymes and protease inhibitors in Plasma from patients with acute pancreatitis. **Pancreas**, v.2, p.198-194, 1987.
24. DÜRR, H.K. Acute pancreatitis, including relapsing acute pancreatitis. In: SARLES, H.; HOWAR, H. T. (ed.). **The exocrine pancreas**. Londonon: Saunders (in press).
25. ECKFELDT, J.H. et al. Serum tests for pancreatitis in patients with abdominal pain. **Arch Pathol Lab Med**, v.109, p.316-319, 1985.
26. FAN, S.T. et al. Early treatment of acute Biliary pancreatitis by endoscopic papillotomy. **N Engl J Med**, v.328, p.228-232, 1993.
27. FITZGERALD, P.J. The problem of the precursor cell of regenerating pancreatic acinar epithelium. **Lab Invest**, v.9, p.67-85, 1960.

28. FITZGERALD, P.J. et al. Pancreatic acinar cell Regeneration. I. Cytologic, cytochemical, and pancreatic weight changes. **Am J Pathol**, v.52, p.983-1011, 1968.
29. FORMER, E.; POPPER, H. Production of acute pancreatitis with ethionine and its prevention by methionine. **Proc Soc Exp Biol Med**, v.74, p.838-840, 1950.
30. GAMBILL, E.E. **Pancreatitis**. Saint Louis: Mosby, 1973.
31. GOLDIM, J.R.; RAYMUNDO, M.M. **Pesquisa em Saúde e Direito dos Animais**. Porto Alegre: HCPA, 1997. 30p.
32. GULLICK, H.D. Relation of the magnitude of blood enzyme elevation to severity Of exocrine pancreatic disease. **Am J Dig Dis**, v.18, p.375-383, 1973.
33. GWOZDZ, G.P. et al. Comparative evaluation of the diagnosis of acute pancreatitis based on Serum and urine enzyme assays. **Clin chim Acta**, v.187, p.243-254, 1990.
34. HERNANDEZ, C.A.; LERCH, M.M. Sphincter stenosis and gallstone migration through the biliary tract. **Lancet**, v.341, p.1371-1373, 1993.
35. KAUFMAN, N. et al. Pancreatic damage induced by excess methionine. **Arch Pathol**, v.70, p.331-337, 1960.
36. KISHINO, Y.; KAWAMURA S. Pancreatic damage induced by infecting a large dose of arginine. **Virchows Archiv (Cell Pathol)**, v.47, p.149-155, 1984.
37. KISHINO, Y. et al. Ultracytochemistry pancreatic Damage induced by excess lysine. **Virchows Arch (Cell Pathol)**, v.52 , p.153-167, 1986.
38. KLAR, E. et al. Microcirculation of the pancreas. A quantitative study of physiology and changes in pancreatitis. **Int J Microcirc Clin Exp**, v.9, p.85-101, 1990.

39. KLAVINS, J.V. Pathology of amino acid excem. VII. Phenylalanine and Tyrosine. **Arch Pathol**, v.84, p.238-250, 1967.
40. KOIKE, K. et al. Pancreatic effects of ethionine: Blockade of exocytosis and appearance of crinophagy and autophagy Precede cellular necrosis. **Am J Physiol**, v.242, p.G297-G307, 1982.
41. LAMPEL, M.; KERN, H.F.. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. **Virchows Arch (Pathol Anat)**, v.373, p.97-117, 1977.
42. LANKISCH, P.G. et al. Effect of Foy - 305 (comostate) on severe acute pancreatitis in two experimental animal models. **Gastroenterology**, v.96, p.193-199, 1989.
43. LERCH, M.M.; ADLER, G. Experimental animal models of acute pancreatitis. **International Journal of Pancreatology**, v.15, n.3, p.159-170, 1994.
44. LEVY, H.M. et al. Effect of arginine on tumor growth in rats. **Cancer Res**, v.14, p.198-200, 1954.
45. LIU, X. et al. Protective effect of nitric oxide on development of acute pancreatitis in rats. **Dig Dis Sci**, v.40, n.10, p.2162-2169, Oct. 1995.
46. LOMBARDI, B. et al. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. **Am J Pathol**, v.79, p.465-480, 1975.
47. MARSH, W.H. et al. Pancreatic acinar cell regeneration. II. Enzymatic, nucleic acid, and protein changes. **Am J Pathol**, v.52, p.103-1037, 1968.
48. MILNER, J.A.; STEPANOVICH, L.V. Inhibitory effect of dietary arginine on growth of Erlich ascites tumor cells in mice. **J Nutr**, v.109, p.489-494, 1979.

49. MINIZUMA, T. et al. Effect of injecting excess arginine on rat pancreas. **J Nutr**, v.114, p.467-471, 1984.
50. MOOSSA, A.R. Diagnostic tests and procedures in acute pancreatitis. **N Engl J Med**, v.311, p.639-643, 1984.
51. MOURET, J. Contribution à l'étude des cellules glandulaires (pancreas). **J Anat Physiol**, v.31, p.221-236, 1895.
52. NAKAKI, T.; KATO, R. Beneficial circulatory effect of L-arginine. **Jpn J Pharmacol**, v.66, n.2, p.167-171, Oct. 1994.
53. NEOPTOLOMOS, J.P. et al. Controlled Trial of urgent endoscopic retrograde cholangiopancreatography And endoscopic sphincterotomy versus conservative treatment for acute Pancreatitis due to yallstones. **Lancet**, v.2, p.979-983, 1988.
54. NEVELAINEN, T.J.; SEPPA, A. Acute pancreatitis caused by closed duodenal loopin the rat. **Scand J Gastroenterol**, v.10, p.521-527, 1975.
55. NIEDERAU, C. et al. Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice; Protective effects of proglumide, benzotript and secretin. **Gastroenterology**, v.88, p.1192-1204, 1985.
56. OPIE, E.L. The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. **John Hopkins Hosp Bull**, v.12, p.182-188, 1901.
57. PFEFFER, R.B. et al. The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic panceatitis in the dog. **Surg Forum**, v.8, p.248-251, 1957.
58. PUOLAKKAINEN, P.A. Early, assessment of acute pancreatitis. A comparative Study of computed tomography and laboratory tests. **Acta Chir Scand**, v.155, p. 25-30, 1988.
59. RAO, K.N. et al. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis in mice. Induction in male mice treated with estradiol. **Am J Pathol**, v.109, p.8-14, 1982.

60. REBER, H.A. et al. The pancreatic duct mucosal barrier. **Ann J Surg**, v.137, p.128-134, 1979.
61. RENNER, I.G.; WISNER, J.R. Exogenous secretin amelioratis ceruletide induced acute pancreatitis in the dog. **Dig Dis Sci**, v. 28, p.946, 1983.
62. ROBERT, J.H. et al. Can serum and peritoneal amylase and lipase determinations help in the early prognosis of acute pancreatitis? **Ann Surg**, v.203, p.163-168, 1986.
63. SANFEY, H. ; CAMERON, J.L. Increased capillary permeability: na early lesion in acute pancreatitis. **Surgery**, v.96, p.485-491, 1984.
64. SCHOENBERG M. W. et al. Involvement of oxygen radicals and Phospholipase A<sub>2</sub> in acute pancreatitis of the rat. **Klin Wochenschr**, v.67, p.166-170, 1989.
65. SCHMIDT, J. et al. Histopathologic correlates of serum amylase activity in acute experimental Pancreatitis. **Dig Dis Sci**, v.37, n.9, p.1426-1433, Sept. 1992.
66. SIEGEL, S. **Nonparametric statistics**. New York: McGraw-Hill, 1956.
67. STEER, M.L. Classification and pathogenesis of pancreatitis. **Surg Clin North Am**, v.101, p.1701-1709, 1989.
68. STONE, H.H. et al. Gallstone pancreatitis. Biliary tract pathology in relation to time of operation. **Ann Surg**, v.194, p.305-310, 1981.
69. SUM, P.T. et al. Pathogenesis of bile-induced acute pancreatitis in the dog: Experiments with detergents. **Am J Dig Dis**, v.15, p.637-646, 1970.
70. TANI, S. et al. Pancreatitis induced by excessive doses of Arginine in rats. **Digestive Diseases and Scienses**, v.35, n.3, p.367-374, Mar. 1990.
71. TIETZ, N.W. et al. Laboratory tests in the Diferential disgnosis of hiperamylasemia. **Clin Chem**, v.32, p.301-307, 1986.

72. WARSHAW, A. L. Lowering the level of uncertainty in late pancreatitis. **Gastroenterology**, v.93, p.1434-1437, 1987.
73. WATANABE, O. et al. Supramaximal caerulein stimulation on the ultrastructure of rat pancreatic Acinar cell: Early morphological changes during development of Experimental pancreatitis. **Am J Physiol**, v.246, p.G475-G467, 1984.

## SUMMARY

The histological and biochemical features of an experimental model of necrotizing acute pancreatitis induced by excessive arginine doses in rats, had been evaluated. The experimental group consisted of 105 Wistar male rats. It was injected in the experimental group of rats (n=70) two doses, at intervals of 15 minutes between each, of a 500mg/100g L-Arginine corporal weight intraperitoneal injection. Isotonic saline solution was injected through intraperitoneal way in the control group (n=35). Analysis of ten animals from experimental group was made in periods of 6, 12, 24, 48 and 72 hours, and 7 and 14 days. Blood was taken for laboratorial analysis and the pancreas for optical microscopy. Twelve to twenty-four hours after the arginine injection, the peak values, similar to those of the control rats, of amilase and lipase serum levels were reached, and slowly returning to normal values at 48 hours, being expressively smaller after 3 and 7 days. After 14 days the enzymatic activity returned to basal levels. Trought



all the evaluation of the control group the amylase and lipase values were normal. Under optical microscopy, after the arginine injection, a histologically preserved pancreatic architecture was observed in the six hours period, and after 24 hours an important interstitial edema became evident. After forty eight hours, the acinar architecture was partially destroyed with focal cellular necrosis, noticing that after 72 hours the severity of the pancreatic necrosis reached its maximum. On the seventh day the acinar necrosis and the edema had diminished, and the acinar architecture starts the regeneration. After 14 days, it was observed that the pancreatic architecture returned to normal. It was not found pancreatic alterations in the control group. It was possible to demonstrate that the Experimental Acute Pancreatitis induced by L-Arginine is a non invasive model which is technically feasible, and capable of inducing pancreatic necrosis. The pancreatitis in this model was self limited with parenchyma and pancreatic activity recovering in two weeks.