

Pancreatite aguda induzida pela técnica da alça duodenal fechada: modelo experimental em ratos

Acute pancreatitis induced by the closed duodenal loop technique: experimental model in rats

LUIZ ROBERTO RIGO WENDT – Cirurgião do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
MÁRIO SÉRGIO T. BORGES DA COSTA – Cirurgião do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

FABIANO NAGEL – Residente de Medicina Interna do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

MARIA ISABEL ALBANO EDELWEISS – Professora do Departamento de Patologia da UFRGS.

LUIZ ROHDE – Professor Titular do Departamento de Cirurgia da UFRGS.

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

✉ Endereço para correspondência:

Luiz Roberto Rigo Wendt

Rua Álvaro Nunes Pereira, 285 Apto. 601
 90570-110 – Porto Alegre – RS – Brasil

☎ (51) 3331-8578

SINOPSE

O desenvolvimento recente de inúmeros modelos experimentais de pancreatite aguda tem permitido o estudo das alterações patológicas que ocorrem nesta doença, bem como o efeito de determinados fármacos. O modelo experimental da técnica da alça duodenal fechada foi testado no desencadeamento de pancreatite aguda em ratos. Foram utilizados 20 ratos machos, alocados em dois grupos, grupo-controle e grupo da pancreatite aguda. A dosagem sérica de amilase e de lipase e o escore histológico de pancreatite aguda foram significativamente maiores no grupo da pancreatite aguda em comparação com o grupo-controle, demonstrando que o modelo experimental da técnica da alça duodenal fechada desencadeou pancreatite aguda em ratos.

UNITERMOS: Pancreatite Aguda, Modelos Experimentais.

ABSTRACT

The recent development of various animal models of acute pancreatitis has allowed the study of the pathological alterations that occur in this disease, as well as the effects of some drugs. The animal model of the closed duodenal loop technique has been tested in the development of acute pancreatitis in rats. Twenty adult male rats were allocated into two groups, the control group (sham operation) and the acute pancreatitis group (closed duodenal loop technique). The serum amylase and lipase levels and the histological score of acute pancreatitis were significantly higher ($p < 0,05$) in the acute pancreatitis group in comparison with the control group, demonstrating that the experimental model of the closed duodenal loop technique developed acute pancreatitis in rats.

KEY WORDS: Acute Pancreatitis, Experimental Models.

INTRODUÇÃO

Pancreatite aguda é definida como inflamação aguda do pâncreas, com alterações patológicas diversas, variando de edema intersticial leve até necrose hemorrágica grave (1). De doença leve até falência de múltiplos órgãos e sepse, a pancreatite aguda é patologia freqüente, cuja incidência vem aumentando, de inúmeras etiologias, com patogênese desconhecida, sem tratamento específico e com evolução não previsível (2).

Em aproximadamente 80-90% dos casos, a pancreatite aguda é uma doen-

ça inflamatória edematosa associada a baixos índices de morbidade e mortalidade. BÜCHLER e cols. (3) relatam que a forma edematosa é bem tratada com medidas conservadoras de suporte. Entretanto, 10-20% dos pacientes podem desenvolver pancreatite aguda mais grave, com necrose peri e intrapancreática e liberação de substâncias tóxicas e vasoativas para a circulação sistêmica, resultando em morbimortalidade elevada apesar do adequado tratamento clínico. Nestas formas graves, nenhuma terapia específica provou ser clinicamente efetiva (4).

Não há terapia específica para pancreatite aguda, e esta pode ser a explicação para o fato de a taxa de mortalidade ser tão elevada (10-30%) na pancreatite aguda grave (5). A terapia específica, para ser clinicamente efetiva, deve alterar a história natural da doença, levando à diminuição da morbidade e da mortalidade.

O recente desenvolvimento de inúmeros modelos experimentais de pancreatite aguda tem permitido o estudo de alterações patológicas que ocorrem na doença, bem como o efeito terapêutico de determinados fármacos (4). Entre os diversos modelos descritos na literatura destacam-se: administração retrógrada no canal pancreático de agentes indutores, como sais biliares, enzimas pancreáticas e bactérias; aplicação intraperitoneal de arginina e lisina; hiperestimulação pancreática por administração de ceruleína intravenosa ou colecistoquinina; isquemia do pâncreas; ligadura do canal pancreático; dieta deficiente em colina e suplementada com etionina por três a cinco semanas; e técnica da alça duodenal fechada.

A administração retrógrada no ducto pancreático de agentes indutores de

pancreatite aguda, como sais biliares, enzimas pancreáticas e bactérias provoca pancreatite aguda necro-hemorrágica. Nesse tipo de modelo experimental, as lesões pancreáticas são imediatas e caracterizadas por edema intersticial, extensa necrose de células acinares e hemorragias durante as primeiras 24 horas após a administração. A mortalidade aumenta de acordo com a quantidade de sais biliares injetados (6, 7).

A aplicação intraperitoneal de doses excessivas de arginina determina pancreatite edematosa em 12 horas e necrose acinar focal em 24 horas. As alterações necróticas do tecido pancreático com infiltrado inflamatório atingem extensão máxima em 72 horas. Em 7 dias, as células acinares pancreáticas começam a se regenerar, e a arquitetura do tecido pancreático apresenta-se com aspecto normal após 14 dias (8).

Hiperestimulação pancreática por aplicação intravenosa, intraperitoneal ou subcutânea de ceruleína, que é análogo sintético da colecistoquinina, pode ser realizada em ratos e camundongos. Nesse modelo experimental, aparece necrose acinar em 7 horas, e, em 12 horas, há necrose acinar maciça sem hemorragia, que, posteriormente, evolui para atrofia e fibrose (9, 10).

O modelo experimental de isquemia pancreática pode ser realizado de diferentes formas: ligadura da irrigação arterial do pâncreas (tronco celíaco, artéria mesentérica superior, artéria gastroduodenal), ligadura da drenagem venosa do pâncreas (veia esplênica, veias gástricas curtas, veia gastroepiplóica esquerda), administração de microesferas e choque hemorrágico. Obtêm-se desde pancreatite aguda edematosa até necro-hemorrágica com esteatonecrose (11).

A ligadura do canal pancreático é modelo experimental de pancreatite aguda utilizado em ratos, levando somente a uma pancreatite edematosa com inflamação periductal (12, 13).

A dieta deficiente em colina, suplementada com etionina por 3 a 5 semanas, é modelo experimental de pancrea-

tite aguda utilizado em camundongos, ratos, gatos e cães, desencadeando pancreatite edematosa até necro-hemorrágica. Em 40 horas, histologicamente, inicia-se a vacuolização, em 54 horas, a infiltração leucocitária e, em 60 horas, ocorre necrose, esteatonecrose e hemorragia (14, 15). Este modelo é criticável devido à dificuldade de padronização da exposição dos animais ao agente.

Na fisiopatologia da pancreatite aguda induzida pela técnica da alça duodenal fechada, a ativação de enzimas pancreáticas é o principal fator de desencadeamento desta doença autodigestiva. O modelo experimental fundamenta-se na observação de que o refluxo do conteúdo duodenal para o ducto pancreático é o fator responsável pela ativação das enzimas pancreáticas, iniciando o dano tecidual. A obstrução experimental do duodeno em ambos os lados da papila de Vater proporciona um aumento da pressão intraduodenal, favorecendo o refluxo do conteúdo para o interior do ducto pancreático (16).

A técnica da alça duodenal fechada produz pancreatite aguda edematosa em 6 horas e pancreatite necro-hemorrágica em 12 horas, sendo que, após a liberação do duodeno, a forma edematosa pode curar completamente em 7 a 14 dias e a hemorrágica, em 3 meses, com seqüelas residuais. Assim, o modelo é descrito como adequado para o desencadeamento e evolução da pancreatite aguda experimental (17). O objetivo do presente estudo é testar este modelo experimental no desenvolvimento da pancreatite aguda experimental em ratos em nosso meio.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um estudo experimental em ratos, com a finalidade de avaliar o modelo experimental da pancreatite aguda induzida pela técnica da alça duodenal fechada (16).

Os procedimentos experimentais foram efetuados na Seção de Experimentação Animal (SEA) da Divisão de

Produção e Experimentação Animal (DPEA) da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) do Rio Grande do Sul. As dosagens laboratoriais foram realizadas no laboratório de bioquímica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). A análise histológica foi feita no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e no Serviço de Patologia do mesmo hospital.

Modelo animal

Foram utilizados 20 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos, adultos, com peso médio de 361g ($\pm 37,3$), provenientes do biotério do Instituto de Biociências da UFRGS. Os animais foram albergados no biotério do DPEA / FEPPS e mantidos em caixas de polipropileno com tampas de arame gradeadas e com dimensões de 35cm x 50cm x 20cm. O fundo das caixas era recoberto com serragem esterilizada em autoclave trocada três vezes por semana. Os animais eram alimentados com ração labina (Purina®) e recebiam água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em ciclo circadiano de luminosidade de 12 horas.

Os animais foram divididos, por sorteio, em dois grupos:

Grupo A – denominado grupo controle do modelo experimental. Neste grupo, os animais foram submetidos apenas a laparotomia mediana, dissecação e mobilização do duodeno.

Grupo B – denominado grupo da pancreatite aguda. Os animais que o compunham foram submetidos a laparotomia mediana, dissecação e ligadura do duodeno com fio de seda 4-0 na primeira e terceira porções, criando uma alça duodenal fechada de 4 cm de extensão. Certificava-se sempre de que o ducto biliopancreático drenava para essa alça fechada através da visualização direta da confluência do ducto com a alça (Figura 1).

A síntese da parede abdominal era realizada com sutura contínua do plano músculo-aponeurótico com fio de



Figura 1 – Visualização do ducto biliopancreático até sua confluência com o duodeno. BP=ducto biliopancreático, P=pâncreas, D=duodeno.

poligalactina 3-0 (Vicryl®, Ethicon®). A pele era fechada da mesma maneira. O procedimento cirúrgico durava em média 30 minutos.

No período pós-operatório, os animais eram transferidos para caixas, nas quais permaneciam à temperatura ambiente, sem alimento, mas com livre acesso à água. Transcorridas 12 horas, os ratos eram novamente anestesiados e mortos.

A cavidade torácica era aberta por esternotomia mediana e coletavam-se 3 a 4 ml de sangue por punção cardíaca direta. Abordava-se então a cavidade peritoneal através da incisão anterior e removia-se o pâncreas através de delicada e cuidadosa dissecação.

Dosagens laboratoriais

A amostra de sangue coletada era colocada em tubos de ensaio e levada diretamente para a centrífuga Dynac®, por tempo médio de 10 minutos à velocidade de 2.000 rotações por minuto. O soro sobrenadante era coletado com pipetas e transferido para frascos que eram enviados ao laboratório de bioquímica do HCPA para dosagem de

amilase e lipase. Os valores eram expressos em UI/l.

Análise histológica

A amostra tecidual, o pâncreas, após ser removida, era acondicionada em frascos individuais identificados contendo solução de formalina a 10%. Após período de fixação de 24 horas, encaminhavam-se as amostras para processamento histológico e confecção de lâminas coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

A análise histológica foi determinada por uma avaliação semiquantitativa de cinco critérios histopatológicos, realizada por um patologista experiente que desconhecia o grupo do qual provinha cada lâmina analisada (estudo cego). Essa análise consistia na avaliação em graus de 0 a 3, sendo 0=ausente, 1=leve, 2=moderado e 3=intenso, dos seguintes critérios histopatológicos:

a) Edema: quando havia extravasamento de líquido seroso (róseo) entre as porções acinares, principalmente nos septos.

b) Hemorragia: presença de hemácias fora do espaço vascular.

c) Infiltração leucocitária: presença de células polimorfonucleares e mononucleares nas áreas de edema e de necrose.

d) Necrose acinar: presença de alterações citoplasmáticas de microvacuolização com degeneração nuclear em células isoladas (necrose focal) até extensas áreas de necrose isquêmica (necrose difusa).

e) Esteatonecrose: necrose de células adiposas por ação enzimática, causando basofilia citoplasmática e intersticial, com precipitação de cálcio.

Para cada animal foi determinado um escore morfológico de gravidade de pancreatite aguda pelo somatório do escore de cada um dos 5 critérios, variando de zero a 15, com base no grau de edema (0-3), hemorragia (0-3), infiltração leucocitária (0-3), necrose acinar (0-3) e esteatonecrose (0-3). Este escore histológico de pancreatite aguda foi modificado de MURAYAMA e cols. (13), de TORIUMI e cols. (18), de SAMUEL e cols. (19) e de KAPLAN e cols. (20).

Análise estatística

Para a comparação do nível sérico médio de amilase e de lipase nos diferentes grupos foi realizada análise de variância (ANOVA) de uma via com procedimento Duncan. Para comparação dos escores histológicos de pancreatite aguda nos dois grupos foi utilizado o Teste U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

Dosagem sérica de amilase e lipase

Os níveis séricos de amilase e lipase encontram-se sumarizados na Tabela 1.

O nível sérico de amilase e lipase foi significativamente maior no grupo B em relação ao do grupo-controle (A) ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Valores séricos médios de amilase nos diferentes grupos. Valores em UI/l

	Grupo A	Grupo B
Amilase	5.760,0	21.248,0 ^a
Lipase	296,5	1.049,7 ^a

^a: p<0,05 comparado ao do grupo A.

Análise histológica

Grupo A (grupo-controle): Na avaliação morfológica deste grupo, os escores totais variaram de 1 a 4. Todas as alterações foram leves (grau 1). Ocorreram edema, hemorragia e necrose acinar em 3 casos, infiltração leucocitária em 8 e ausência de esteatonecrose em todos os animais.

Grupo B (Grupo pancreatite aguda): Os escores totais variaram de 6 a 13. Pelo menos uma vez, no mínimo, cada critério teve o escore de maior gravidade (3) (Figura 2).

Os escores totais de pancreatite aguda de cada animal, representando o somatório dos critérios histológicos nos diferentes grupos, estão na Tabela 2.

Aplicou-se o Teste U de Mann-Whitney para comparação dos grupos

entre si. Verificou-se que o modelo experimental da técnica da alça duodenal fechada foi efetivo para desenvolver pancreatite aguda.

DISCUSSÃO

Inúmeros modelos experimentais de pancreatite aguda foram desenvolvidos recentemente, mas, devido à heterogeneidade dessa patologia, é difícil reproduzir integralmente o quadro da doença humana (20). Os modelos mais utilizados são o da injeção retrógrada intraductal ou intraparenquimatoso de sais biliares, o da administração intraperitoneal ou intravenosa de ceruleína, o da pancreatite induzida pela dieta deficiente em colina suplementada com etionina e o da técnica

Tabela 2 – Escores histológicos de pancreatite aguda nos diferentes grupos n=número do animal, aeq=amplitude entre quartis

	Grupo A	Grupo B
n ₁	1	6
n ₂	2	11
n ₃	1	13
n ₄	1	6
n ₅	1	8
n ₆	1	11
n ₇	1	8
n ₈	1	8
n ₉	4	6
n ₁₀	4	12
Mediana	1,0	8,0 ^a
Aeq	1,0	5,0

da alça duodenal fechada. Como não há um modelo experimental ideal de pancreatite aguda, aquele a ser utilizado deve ser escolhido de acordo com as exigências do estudo (20).

O modelo da injeção retrógrada de sais biliares no ducto pancreático é tecnicamente difícil e está associado com alta mortalidade (20). A hiperestimulação pancreática com ceruleína determina pancreatite aguda leve e autolimitada em ratos (9, 10, 20). O modelo experimental de pancreatite aguda pela dieta deficiente em colina suplementada com etionina induz pancreatite grave e letal em ratos (14, 15, 20).

O modelo experimental de pancreatite aguda selecionado para o presente estudo foi o da técnica da alça duodenal fechada descrito por NEVALAINEN; SEPPÄ (16). As razões da escolha foram facilidade de execução e reprodução, possibilidade de ser realizado em ratos, animais de fácil obtenção, e probabilidade de aparecimento de pancreatite edematosa até necro-hemorrágica, com amplo espectro de lesões.

O refluxo do conteúdo duodenal para o interior do ducto pancreático seria o mecanismo patogênico da pancreatite aguda neste modelo experimental. Os componentes do conteúdo duodenal, como ácido clorídrico, bile, bactérias e enzimas, quando no interior do ducto pancreático podem causar lesões tanto diretamente quanto via ativação de enzimas digestivas pan-

creáticas. Esse tipo de refluxo pode constituir o mecanismo patogênico em alguns casos de pancreatite aguda em humanos (21).

TANI e cols. (8), em estudo experimental utilizando o modelo de pancreatite aguda induzida pela técnica da alça duodenal fechada, concluíram que a colecistoquinina endógena está envolvida no desenvolvimento da pancreatite aguda. HA e cols. (17), em outro trabalho experimental com o mesmo modelo de pancreatite aguda, concluíram que a colecistoquinina endógena liberada em resposta à alça duodenal fechada contribui para o desenvolvimento da pancreatite aguda edematosa, mas não para a hemorrágica.

A técnica cirúrgica aqui adotada desencadeou pancreatite aguda em ratos porque os animais do grupo pancreatite aguda (B) apresentaram todas as características macroscópicas, laboratoriais e histológicas esperadas conforme o modelo original de NEVALAINEN; SEPPÄ (16). Quando essas características foram confrontadas com o grupo-controle (A), mostraram diferença estatisticamente significativa (níveis séricos de amilase e lipase, escore histológico de pancreatite aguda) (p<0,01).

O desenvolvimento do modelo foi tecnicamente de fácil execução e, no tempo determinado para o sacrifício, todos os animais estavam vivos, facilitando a obtenção de todos os dados de forma consecutiva.

Níveis séricos de amilase e lipase

No estudo original de NEVALAINEN; SEPPÄ (16), os níveis séricos médios de amilase foram de 5.470 UI/l e de 14.780 UI/l nos grupos-controle e da alça duodenal fechada, respectivamente. A lipase não foi dosada por esses autores. No presente trabalho, os níveis séricos médios de amilase no grupo-controle (A) foram de 5.760 UI/l e de 21.248 UI/l no grupo pancreatite aguda (B), correspondendo aos relata-

dos por NEVALAINEN; SEPPÄ (16). Para ser realizada a dosagem de níveis séricos tão elevados de amilase e de lipase, foi necessário diluir as amostras coletadas e, após a leitura pelos aparelhos laboratoriais, calcular o valor sérico de acordo com a diluição empregada.

TANI e cols. (8) e HA e cols. (17), utilizando o modelo experimental de pancreatite aguda induzida pela técnica da alça duodenal fechada, também demonstraram valores semelhantes, nos níveis séricos de amilase e lipase, aos aqui encontrados.

Essas observações permitem afirmar que o modelo experimental de pancreatite aguda induzida pela técnica da alça duodenal fechada foi efetivo para produzir alterações enzimáticas características de pancreatite aguda, quais sejam: elevação dos níveis séricos de amilase e de lipase.

Análise histológica

Os estudos experimentais possuem a vantagem de propiciar a análise microscópica do pâncreas, permitindo a utilização de escores histológicos de gravidade da pancreatite aguda (20).

Nossa pesquisa baseou-se em critérios histológicos bem estabelecidos descritos previamente (13, 18, 19, 20). As variáveis morfológicas foram avaliadas semiquantitativamente em graus de 0 a 3 por patologista experiente que desconhecia os grupos dos quais provinha cada amostra, sendo atribuído um escore histológico de pancreatite aguda que resultava do somatório dos graus atribuídos para cada variável morfológica.

No presente estudo, no grupo-controle (A), todas as alterações histológicas foram leves (grau 1). Isso sugere que o simples ato cirúrgico com manipulação do pâncreas pode ocasionar exsudação neutrocitária e, em poucos animais (três em dez), focos de hemorragia, necrose acinar e edema. Em nenhum caso ocorreu esteatonecrose.

O grupo pancreatite aguda (B) foi o que mostrou as mais evidentes alte-

rações morfológicas, conforme esperado. Todos os animais apresentaram todas as alterações histológicas com graus variáveis, à exceção de três (B₁, B₈ e B₉), nos quais não encontramos esteatonecrose, talvez pelo decurso de 12 horas entre o procedimento cirúrgico e o sacrifício. Pelo fato de todos os animais estarem vivos ao final do experimento (12 horas), não se observou o escore máximo de 15 em nenhum deles, sendo o maior escore histológico de 13 (B₃). Todos os critérios histológicos neste grupo foram encontrados, pelo menos em um animal, em grau 3 (intenso). Se o experimento transcorresse em maior período de tempo, talvez um maior número de animais apresentaria escores grau 3 (intenso). A maioria dos animais apresentou grau 2 (moderado) em todos os critérios histológicos. Essas alterações histológicas correspondem às observadas por NEVALAINEN; SEPPÄ (16) e por TANI e cols. (8) no grupo da alça duodenal fechada.

Para avaliação do modelo experimental de pancreatite aguda da alça duodenal fechada realizado no presente estudo, comparamos os escores histológicos do grupo pancreatite aguda (B) com os do grupo-controle (A). O que diferencia os dois grupos é somente a dupla ligadura duodenal em ambos os lados da papila no grupo pancreatite aguda, pois, nos dois grupos, os animais foram anestesiados, submetidos a laparotomia e tiveram o pâncreas e o duodeno manipulados. Notamos diferença estatisticamente significativa (p<0,01) na comparação dos escores histológicos nestes dois grupos. Portanto o modelo experimental da alça duodenal fechada desencadeou pancreatite aguda em ratos dentro dos métodos propostos por esta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. YEO CJ, CAMERON JL. Acute pancreatitis. In: ZUIDEMA GD, ed. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract*. 3. ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1991. p. 19-36.

2. STEINBERG W, TENNER S. Acute pancreatitis. *N. Engl. J. Med.*, 1994; vol. 330, p. 1198-210.
3. BÜCHLER MW, BINDER M, FRIESS H, MALFERTHEINER P. Potential role of somatostatin and octreotide in the management of acute pancreatitis. *Digestion*, 1994a; vol. 55, p. 16-9 Supplement 1.
4. ZHU ZH, HOLT S, EL-LBISHI MS, GRADY T, TAYLOR TV, POWERS RE. A somatostatin analogue is protective against retrograde bile salt-induced pancreatitis in the rat. *Pancreas*, 1991; vol. 6, p. 609-13.
5. BÜCHLER MW, BINDER M, FRIESS H. Role of somatostatin and its analogues in the treatment of acute and chronic pancreatitis. *Gut*, 1994b; p. S15-9 Supplement 3.
6. AHO HJ, KOSKENSALO SML, NEVALAINEN TJ. Experimental pancreatitis in the rat: sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 1980a; vol. 15, p. 411-6.
7. AHO HJ, NEVALAINEN TJ, LINDBERG RLP, AHO AJ. Experimental pancreatitis in the rat: the role of phospholipase A in sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1980b; vol. 15, p. 1027-31.
8. TANI S, ITOH H, OKABAYASHI Y, NAKAMURA T, FUJII M, FUJISAWA T, KOIDE M, OTSUKI M. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats. *Dig. Dis. Sci.*, 1990; vol. 35, p. 367-74.
9. KEIM V, ADLER G, HABERICH FJ, KERN HF. Failure of secretion to prevent or ameliorate cerulein-induced pancreatitis in the rat. *Hepato-Gastroenterol.*, 1985; vol. 32, p. 91-6.
10. NIEDERAU C, FERRELL LD, GRENDELL JH. Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: protective effects of proglumide, benzotript and secretin. *Gastroenterology*, 1985; vol. 88, p. 1192-204.
11. SHIBAYAMA Y. Pancreatic venous stasis and endotoxaemia as aetiologic factors in acute haemorrhagic pancreatitis. *J. Pathol.*, 1987; vol. 152, p. 177-82.
12. DUMONT AE, MARTELLI AB. Pathogenesis of pancreatic edema following exocrine duct obstruction. *Ann. Surg.*, 1968; vol. 168, p. 302-9.
13. MURAYAMA KM, DREW JB, YOKOO H, JOEHL RJ. Bile exclusion from the gut exacerbates acute pancreatitis caused by pancreatic duct obstruction in rats. *Pancreas*, 1991; vol. 6, p. 175-81.
14. MANABE T, STEER ML. Experimental acute pancreatitis in mice: protective effects of glucagon. *Gastroenterology*, 1979 vol. 76, p. 529-34.
15. COELLE EF, TAYLOR IL, LEWIN K, ADHAM N. Beneficial effect of pancreatic polypeptide in experimental pancreatitis. *Dig. Dis. Sci.*, 1983; vol. 28, p. 1083-8.
16. NEVALAINEN TJ, SÄPPÄ A. Acute pancreatitis caused by closed duodenal loop in the rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1975; vol. 10, p. 521-7.
17. HA S, SATAKE K, HIURA A, SOWA M, NISHIWAKI H. Effect of a new cholecystokinin receptor antagonist (KSG 504) on the early stage of the healing process in acute pancreatitis induced in rats by the closed duodenal loop technique. *Pancreas*, 1994; vol. 9, p. 501-7.
18. TORIUMI Y, SAMUEL I, WILCOCKSON DP, TURKELSON CM, SOLOMON TE, JOEHL RJ. Octreotide and cholecystokinin antagonist reduce edema in obstruction-induced acute pancreatitis. *J. Lab. Clin. Med.*, 1993; vol. 122, p. 450-4.
19. SAMUEL I, TORIUMI Y, YOKOO H, WILCOCKSON DP, TROUT JJ, JOEHL RJ. Ligation-induced acute pancreatitis in rats and opossumus: a comparative morphologic study of the early phase. *J. Surg. Res.*, 1994; vol. 57, p. 299-311.
20. KAPLAN O, KAPLAN D, CASIF E, SIEGAL A, PARAN H, GRAFE, SKORNICK Y. Effects of delayed administration of octreotide in acute experimental pancreatitis. *J. Surg. Res.*, 1996 vol. 62, p. 109-17.
21. MCCUTCHEON A.D. *Gut*, 1968 vol. 9, p. 296-310, apud NEVALAINEN TJ, SÄPPÄ A, 1975, p. 521-7.