

REPERCUSSÕES PULMONARES DA PANCREATITE AGUDA INDUZIDA POR LIGADURA DO DUCTO BILIOPANCREÁTICO: ESTUDO EM RATOS

*PULMONARY REPERCUSSIONS OF ACUTE PANCREATITIS INDUCED BY BILIOPANCREATIC
DUCT LIGATURE: STUDY IN RATS*

Liara Carolina Archanjo Rocha, Anna Lia Amadio Belli, Beatriz Teixeira de Araujo, Daniela Gomes de Araujo, Fernanda Rodrigues Dias, Laís Petrillo Mello de Almeida, Vinicius Feitosa Xavier, Yan Cesar Moreira, Maria Eduarda Monteiro Silva, Marcel Vasconcellos

RESUMO

O presente estudo objetivou caracterizar as repercussões pulmonares da pancreatite aguda em ratos (*Rattus norvegicus*), induzida pela ligadura do ducto biliopancreático. Vinte e quatro ratos Wistar, machos, com idade de três meses e peso médio de 300 ± 20 g, foram randomizados em Grupo Controle (GC, n = 6), sem procedimento cirúrgico; Grupo Simulação (GS, n = 6), apenas com os acessos cirúrgicos e Grupo Pancreatite aguda (GPA, n = 12), ligadura distal do ducto biliopancreático (LDBP), seguida de síntese cirúrgica. Os animais desse grupo foram distribuídos em três subgrupos (2, 4 e 6h após a LDBP) com 4 animais cada. Seguiu-se a colheita de sangue para testes bioquímicos e amostras do pulmão e pâncreas para exames histológicos. Nos animais do GPA, evidenciou-se a elevação significativa da concentração sérica de amilase e lipase pancreáticas, quando comparada aos valores obtidos no GC e GS ($p < 0,05$). No GPA em todos os períodos estudados, os exames histológicos mostraram intenso infiltrado inflamatório neutrofílico, característico de pancreatite supurativa. Duas horas após a LDBP, a histologia pulmonar revelou hemorragia intra-alveolar e colapso, sugerindo que o pico da resposta inflamatória ocorra neste período. Nos tempos de 4 e 6h, foi observada congestão vascular e pneumonia intersticial linfoplasmocitária e neutrofílica. O modelo cirúrgico de LDBP, comprovou ser factível, de baixo custo e elevada reprodutibilidade.

Palavras-chave: Pancreatite aguda; Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo; Ratos Wistar.

ABSTRACT

The present study aimed to characterize the pulmonary repercussions of acute pancreatitis in rats (*Rattus norvegicus*), induced by ligation of the biliopancreatic duct. Twenty-four male Wistar rats, aged three months and mean weight of 300 ± 20 g, were randomized into a Control Group (CG, n = 6), without surgical procedure; Simulation Group (SG, n = 6), with surgical approaches only and Acute Pancreatitis Group (APG, n = 12), distal ligation of the biliopancreatic duct (BDL), followed by surgical synthesis. The animals in this group were divided into three subgroups (2, 4 and 6h after BDL) with 4 animals each. This was followed by blood collection for biochemical tests and lung and pancreas samples for histological examinations. In the APG animals, there was a significant increase in the serum concentration of pancreatic amylase and lipase, when compared to the values obtained in the CG and SG ($p < 0.05$). In APG, in all periods studied, histological examinations showed an intense neutrophilic inflammatory infiltrate, characteristic of suppurative pancreatitis. Two hours after BDL, pulmonary histology revealed intra-alveolar hemorrhage and collapse, suggesting that the peak of the inflammatory response occurs during this period. At 4 and 6 hours, vascular congestion and lymphoplasmocytic and neutrophilic interstitial pneumonia were observed. The surgical model of BDL proved to be feasible, of low cost and high reproducibility.

Keywords: Acute pancreatitis; Acute Respiratory Distress Syndrome; Wistar rats.

INTRODUÇÃO

O uso de modelos animais tem por objetivo reproduzir doenças humanas, buscando identificar suas causas, correlacionar achados histológicos, elucidar mecanismos fisiopatológicos e resposta terapêutica. Todos os modelos experimentais apresentam um certo grau de homologia e limitações no que se refere ao fenótipo da doença humana. Ademais, o tempo, custo, exequibilidade e reprodutibilidade do modelo devem ser considerados.

Modelos *in vivo* são imprescindíveis na compreensão da fisiopatologia e desenvolvimento de novos fármacos ou técnicas operatórias, bem como na descoberta de biomarcadores moleculares de valor preditivo. No entanto, por uma série de razões, sua tradução em mudanças na prática clínica nem sempre se mostra fácil.¹⁰

Nesse contexto, o estudo buscou desenvolver um modelo factível de pancreatite aguda (PA) em ratos, que permita investigar *à posteriori* estratégias terapêuticas.

A pancreatite aguda é uma doença inflamatória do pâncreas exócrino caracterizada por dor abdominal aguda e aumento nas concentrações séricas de amilase e lipase pancreáticas.^{4,5}

No homem, disfunções respiratórias associadas com a PA podem ser responsáveis por um número significativo de óbitos durante os estágios iniciais da doença e, dentre essas, destacam-se a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) e a Lesão Pulmonar Aguda (LPA),^{4,5,6,10} também observadas em cães (*Canis lupus familiaris*) e gatos (*Felis catus*)¹³.

Considerando o aumento da prevalência da PA em cerca de 20% na última década⁶ e o impacto econômico e no bem-estar dos pacientes afetados, torna-se relevante o desenvolvimento e aprimoramento de modelos experimentais, nos quais possam ser

investigados aspectos fisiopatológicos ainda pouco compreendidos.

Embora a caracterização das repercussões pulmonares secundária à PA tenha sido descrita em camundongos (*Mus musculus*), suínos (*Sus scrofa domesticus*) e outros modelos experimentais, tais estudos utilizaram metodologia bastante diversa, o que impede uma análise comparativa no que tange a um modelo único e ideal para estudo. Assim, poucas informações se encontram disponíveis na literatura acerca das repercussões pulmonares precoces da pancreatite aguda de causa obstrutiva ratos.¹⁵

Na literatura encontra-se principalmente, modelos de natureza química na indução da PA em ratos, sendo utilizados para avaliação de lesões à distância, bem como na observação de efeitos terapêuticos de fármacos para atenuar tais consequências, à exemplo da injeção retrógrada de taurocolato de sódio (NaTc) pelo ducto biliopancreático, método reconhecido no estudo da patogênese da pancreatite aguda, devido à boa repetibilidade e comparabilidade¹⁷. Outros autores citam a administração de ceruleína, técnica não invasiva amplamente utilizada em camundongos (*Mus musculus*), ratos (*Rattus norvegicus*), cães (*Canis lupus familiaris*) e cobaias (*Cavia porcellus*), por permitirem que a gravidade da doença seja modulada por meio do uso de diferentes concentrações da substância e número de injeções. Relatos da indução por L-arginina também são encontrados em estudos experimentais. A L-arginina induz a PA a partir de diversos mecanismos e permite a subsequente investigação das fases iniciais e finais, bem como danos associados. Todas as técnicas referidas, reproduzem significativos danos respiratórios e pulmonares.⁴

Por sua vez, o método cirúrgico de ligadura distal do ducto biliopancreático (LDBP) mostra-se análogo à obstrução ductal observada em humanos e reproduz a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) e

suas consequências, como a SDRA, na qual os pulmões são os órgãos mais afetados.¹⁷

Considerando seu potencial translacional, optou-se por utilizar o método cirúrgico de LDBP, haja vista que a obstrução da ampola hepatopancreática de Vater é uma das causas mais comuns da pancreatite aguda humana.

O desenvolvimento de um modelo experimental factível, de baixo custo e elevada reprodutibilidade, permitirá estudos ulteriores na área de gastroenterologia experimental do UNIFESO.

OBJETIVOS

Caracterizar as repercussões pulmonares da pancreatite aguda induzida pela LDBP em ratos (*Rattus norvegicus*).

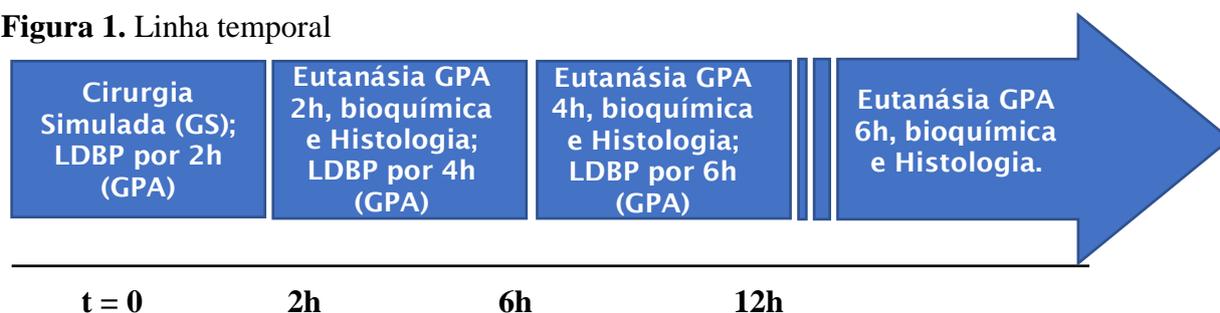
MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização da amostra e desenho do estudo experimental

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do UNIFESO, sob o n.º 511/2019 e encontra-se de acordo com a Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, bem como em conformidade com os princípios adotados internacionalmente, sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório.

Amostra

Figura 1. Linha temporal



Em t = 0, realizou-se a cirurgia simulada (GS) e ligadura do ducto biliopancreático (GPA 2h), seguida da colheita de sangue para determinação da concentração sérica de amilase e lipase pancreáticas e de amostras pulmonares e pancreáticas para exames histológicos. A mesma metodologia foi utilizada no GC e no GPA após 4 e 6h. Fonte: Autores.

Para o desenvolvimento da pesquisa, foram utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, com idade de 3 meses e peso médio de 300 ± 20 g, mantidos sob ciclo circadiano (12h claro/12h escuro), temperatura ambiente (22 ± 2 °C), umidade relativa do ar ($55 \pm 5\%$) e cuidados padronizados de higiene e alimentação na Instalação de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos- UNIFESO.

Desenho do estudo experimental

Os animais foram distribuídos randomicamente em três grupos: I- Grupo Controle (GC, n = 6), sem procedimento cirúrgico; II- Grupo Simulação (GS, n = 6), apenas com os acessos cirúrgicos e III- Grupo Pancreatite aguda (GPA, n = 12), laparotomia mediana supraumbilical, ligadura distal do ducto biliopancreático (LDBP) e síntese cirúrgica. Os animais desse grupo foram distribuídos em três subgrupos com quatro animais cada, nos períodos de 2, 4 e 6h após a LDBP.

A seguir, procedeu-se a eutanásia e colheita de amostras de sangue, tecido pulmonar e pancreático.

Síntese dos procedimentos em linha de tempo

A figura 1 resume os principais eventos que compuseram o delineamento experimental do estudo, sequenciados em linha temporal.

Técnica cirúrgica de ligadura distal do ducto biliopancreático (LDBP)

A indução anestésica foi realizada em uma câmara de indução acrílica, utilizando o método *open-drop*, onde uma gaze estéril embebida em 0,5 ml de isoflurano a 10% (Isoforine[®], Cristália, BR) foi posicionada no piso da câmara de indução.

Para potencializar a analgesia, administrou-se 30 minutos antes do procedimento, a associação de 10 mg/kg de sulfato de morfina (Dimorf[®], Cristália, BR) e 150 mg/kg de metamizol (D-500[®], Zoetis, BR), ambos por via intramuscular.

Após a perda de reflexos de propriocepção, os animais foram pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal no quadrante abdominal inferior direito da associação de 100 mg/kg de cloridrato de cetamina a 10% (Cetamin[®], Syntec, BR) e 10 mg/kg de cloridrato de xilazina a 2% (Sedalex[®], Rhobifarma, BR). Após a preparação rotineira do campo cirúrgico e cuidados de assepsia e antisepsia, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, sob uma plataforma aquecida (37 °C), e monitorados (temperatura e oximetria) durante o procedimento.

Para os animais do GPA, uma laparotomia mediana foi realizada, estendendo-se do processo xifoide até o umbigo. A manipulação do ducto biliopancreático foi realizada com uso de cotonetes estéreis umedecidos em solução salina estéril. Seguiu-se a identificação e ligadura distal do ducto biliopancreático com fio de seda 4-0 (Ethicon[®], BR) na sua junção com o duodeno, com cuidado para evitar danos aos vasos pancreaticoduodenais craniais e caudais. Após a ligadura, os órgãos foram posicionados anatomicamente procedendo-se à síntese da parede abdominal, utilizando fio de mononáilon 3-0 (Ethicon[®], BR) em padrão contínuo para a musculatura e peritônio, e em padrão interrompido para a pele.

Ao término, os animais foram colocados em gaiola de polipropileno com panos de campo

estéreis, aquecidos por lâmpada de infravermelho sob um colchão térmico a 37 °C. Durante o período pós-operatório imediato os animais foram observados quanto a sinais de dor.

Ao final do período obstrutivo em cada grupo, os animais foram eutanasiados por sobredose anestésica (cinco vezes a dose recomendada).

Exames bioquímicos

Cerca de 2 ml de sangue total foi colhido por punção intracárdica utilizando agulha 19G e seringa de 3 ml. As amostras foram acondicionadas em tubos estéreis contendo soro ativador de coagulação e gel separador (Vacuette[®], Greiner Bio-One, BR), e mantidas sob refrigeração (5 ± 3 °C). Em seguida, as amostras foram identificadas e enviadas a laboratório particular (TECSA[®], MG, BR), onde determinou-se a concentração da amilase e lipase pancreáticas (U/L).

Exames histológicos

Amostras do pâncreas e pulmão foram colhidas imediatamente após o óbito, e fixadas em formaldeído a 10%. As lâminas foram preparadas para coloração com HE (hematoxilina e eosina), e enviadas ao laboratório TECSA[®], MG, BR, onde foram analisadas sob microscopia óptica em ampliações de 100x.

O pâncreas foi analisado de acordo com o escore patológico de Jahović, considerando os aspectos de degeneração de células acinares, edema intersticial, infiltração de leucócitos e congestão vascular. O escore é graduado de 0 a 3, onde 0 significa ausência; 1, leve; 2, moderado e 3, severo, com escore máximo de 12 pontos.

Os danos pulmonares foram avaliados de acordo com o escore patológico de Özveri, que considera os aspectos de congestão vascular, edema intersticial, alterações estruturais nos alvéolos, infiltração de leucócitos e edema generalizado. O escore é graduado de 0 a 3 (0, ausência; 1, leve; 2, moderado e 3, severo), com escore máximo de 15 pontos.

Análise estatística dos dados

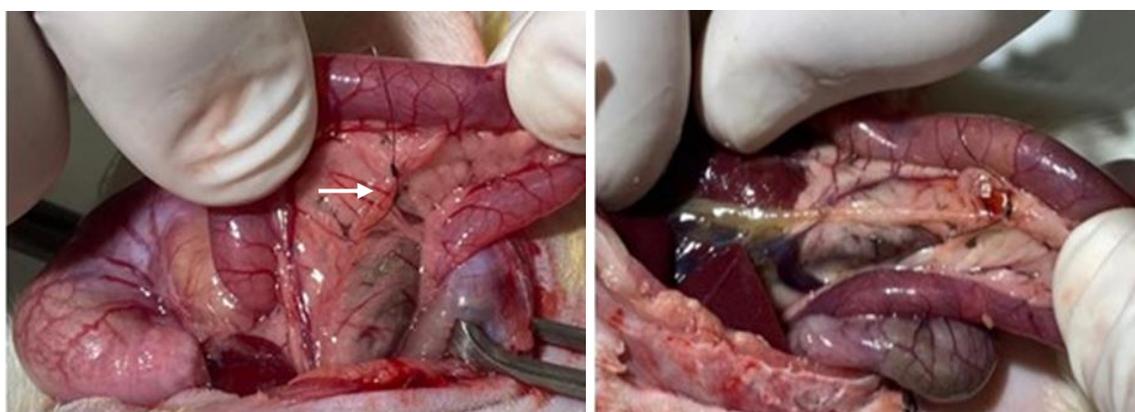
As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 22.0 (Belmont, CA, EUA). Para comparar as médias entre os grupos estudados, utilizou-se a análise de variância ANOVA. Em todos os testes foi estabelecido um intervalo de confiança de 95% (IC = 95%) e um grau de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Durante a curva de aprendizagem da técnica operatória de LDBP, utilizou-se animais procedentes do descarte sanitário da Instalação de Ciência Animal do UNIFESO (estudo *ex vivo*).

A figura 2 ilustra a técnica operatória de ligadura distal do ducto biliopancreático (LDBP) em ratos, já no estudo definitivo.

Figura 2. Ligadura do ducto biliopancreático (LDBP)



(A) Ligadura do ducto biliopancreático (seta). (B) Congestão biliar na tríade portal após duas horas. Fonte: Autores.

Em relação as concentrações séricas de amilase e lipase pancreáticas, não foram observadas diferenças significantes entre o GC e GS ($p > 0,05$) como demonstrado na tabela 1.

Tabela 1. Concentração sérica de lipase e amilase pancreáticas (GC; GS)

GC	Rato 1	Rato 2	Rato 3	Rato 4	Rato 5	Rato 6	Média ±DP
Lipase (U/L)	7,50	8,20	15,80	6,60	10,00	13,70	10,3±3,37
Amilase (U/L)	1,64	1,30	1,10	1,90	1,60	1,70	1,42±0,38
GS	Rato 1	Rato 2	Rato 3	Rato 4	Rato 5	Rato 6	Média ±DP
Lipase (U/L)	6,10	15,70	5,50	14,00	9,80	14,00	10,85±3,9*
Amilase (U/L)	1,90	2,00	0,80	1,00	1,20	1,40	1,38±0,44**

Lipase: GC versus GS = * $p > 0,05$. Amilase: GC versus GS = ** $p > 0,05$. DP = Desvio-padrão da média. Fonte: Autores.

Já entre os controles e os animais dos grupos submetidos à LDBP, a média das concentrações séricas das enzimas pancreáticas mostraram-se significativamente aumentadas ($p < 0,001$), característicos de pancreatite aguda.

As concentrações das enzimas pancreáticas nos grupos com diferentes períodos de obstrução por LDBP foram expressas na tabela 2.

Tabela 2. Concentração sérica de lipase e amilase pancreáticas (GPA)

GPA 2h	Rato 1	Rato 2	Rato 3	Rato 4	Média ± DP
Lipase (U/L)	22,00	24,60	18,70	23,90	22,30 ± 2,28
Amilase (U/L)	3,36	3,85	3,20	3,80	3,55 ± 0,28
GPA 4h	Rato 1	Rato 2	Rato 3	Rato 4	Média ± DP
Lipase (U/L)	193,00	90,20	118,00	184,70	146,47±43,6*
Amilase (U/L)	9,36	6,87	8,45	9,22	8,47± 0,98**
GPA 6h	Rato 1	Rato 2	Rato 3	Rato 4	Média ± DP
Lipase (U/L)	176,50	115,40	87,00	90,60	117,37±35,8*
Amilase (U/L)	7,15	8,30	8,35	9,44	8,31± 0,81**

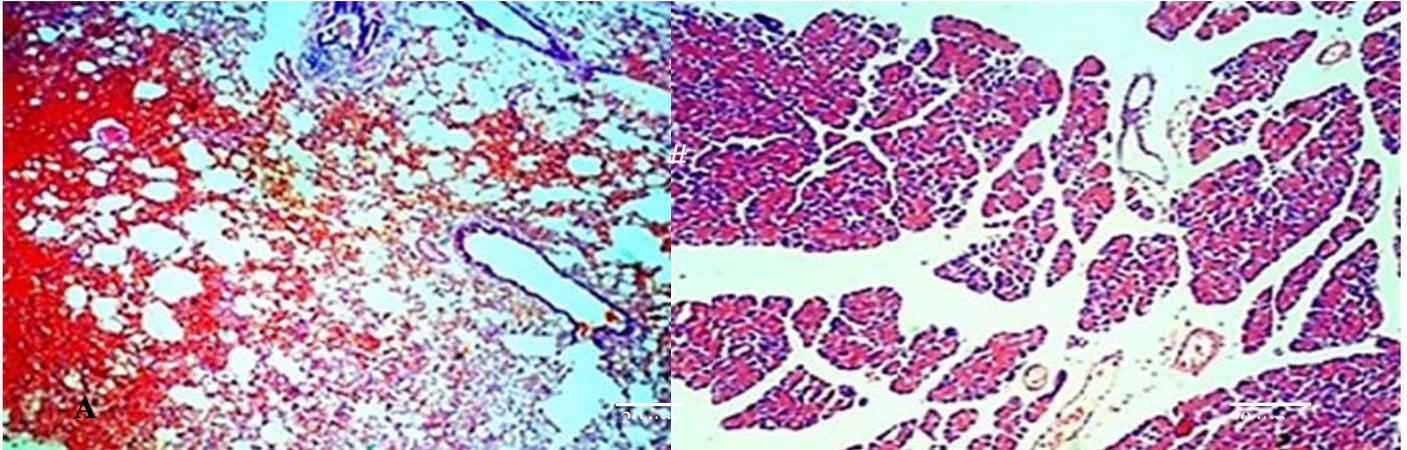
DP = Desvio-padrão da média. Fonte: Autores.

Entre os animais dos grupos submetidos à ligadura do ducto biliopancreático, foram observadas diferenças significantes entre a lipase e amilase pancreáticas do GPA 2h, quando comparado aos demais grupos (GPA 4 e 6h). Estes, mostraram valores bem mais elevados (respectivamente * $p < 0,001$ e ** $p < 0,05$).

No entanto, não se observou diferença nas concentrações das enzimas pancreáticas entre o GPA 4h e o GPA 6h ($p > 0,05$).

Em seguida, procedeu-se aos exames histológicos do pâncreas e pulmão dos animais do GPA, nos respectivos tempos de 2, 4 e 6 horas após a LDBP (Figuras 3, 4 e 5).

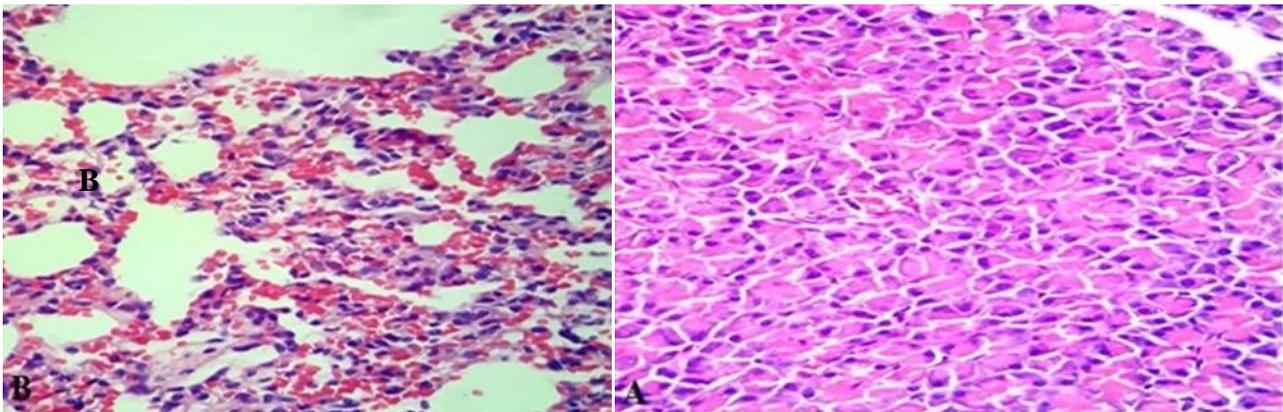
Figura 3. GPA 2h após a LDBP



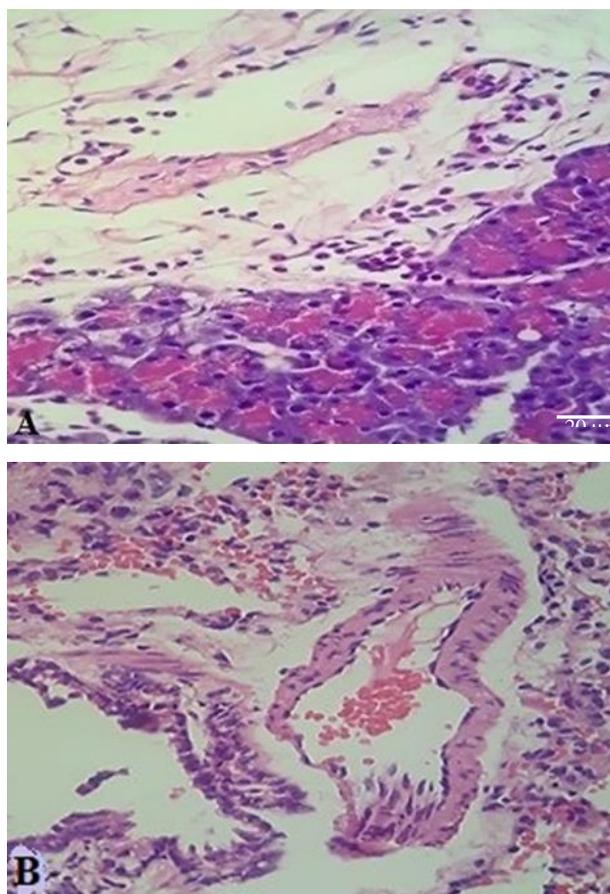
A) Pâncreas dentro dos padrões histológicos de normalidade.

B) Extensa área hemorrágica (#) e enfizema. H&E. 100x. Barra de escala: 20 µm. Fonte: Autores.

Figura 4. GPA 4h após a LDBP



A) Tecido pancreático com morfologia típica e infiltrado inflamatório neutrofílico, compatível com pancreatite supurativa. B) Infiltrado inflamatório intersticial pulmonar. Congestão vascular. Os achados são compatíveis com pneumonia intersticial neutrofílica. H&E. 100x. Barra de escala: 20 µm. Fonte: Autores.

Figura 5. GPA 6h após a LDBP


A) Presença de infiltrado inflamatório neutrofílico e pancreatite supurativa. B) Achados compatíveis com pneumonia. H&E. 100x. Barra de escala: 20 μ m. Fonte: Autores.

DISCUSSÃO

A escolha do modelo cirúrgico de LDBP, baseou-se em evidências que demonstraram o desenvolvimento de lesões à distância em múltiplos órgãos, entre eles o pâncreas e os pulmões, bem como sua analogia com a obstrução ductal observada em humanos.¹⁷

Destarte, o presente estudo, desenvolvido na Instalação de Ciência Animal do UNIFESO, utilizou ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia* – Berkenhaout, 1769), machos, da linhagem Wistar, sob variáveis ambientais controladas.

No que tange as concentrações séricas de amilase e lipase pancreáticas, entre os animais do GC e GS, não foram encontradas diferenças

estatisticamente significantes ($p > 0,05$). Já entre os controles, e os animais dos grupos submetidos à LDBP, a média das concentrações séricas das enzimas pancreáticas mostraram-se significativamente aumentadas ($p < 0,001$), atestando a pancreatite aguda.

Na análise intragrupo, entre o GPA 2h e os demais grupos submetidos à LDBP (4 e 6h), verificou-se diferença estatisticamente significativa. Tais grupos demonstraram valores mais elevados (respectivamente, $*p < 0,001$ e $**p < 0,05$). Caracterizou-se dessa forma, o pico da resposta inflamatória na espécie, no qual, a partir das primeiras duas horas, ocorrem as reações celulares e vasculares sinalizadoras da pancreatite aguda.

Particularmente no GPA 2h, verificou-se a ausência de lesões histológicas significativas, com escore patológico de Jahović de valor total 0 (zero). Watson (2015)¹⁶, aduziu que a obstrução mecânica do ducto biliopancreático, resulta em aumento gradual da tensão intraductal, que por sua vez desencadeia maior permeabilidade microvascular, especialmente pela ação da histamina e de prostaglandinas, além do aumento da permeabilidade epitelial. Desse modo, justificase a ausência de lesões histológicas significativas nas primeiras duas horas após a LDBP.

Nos subgrupos 4 e 6h, a histologia revelou infiltrado inflamatório multifocal sugestivo de moderada pancreatite supurativa (escore total 2) e lesão pancreática. Nestes períodos, a literatura cita em cães e gatos danos às células ductais, as quais culminam em redução ou até mesmo na ausência de secreção pancreática e endotoxemia.^{9,16}

Bathia *et al.* (2005)³, aduziram que ao ser lesionado, o pâncreas inicia um processo em que os lisossomos se fundem com os grânulos de zimogênios no interior das células acinares. Após esta fusão, a catepsina B ativa o tripsinogênio em tripsina. Talukdar *et al.* (2016)¹¹, sugeriram que após sua liberação, a

tripsina é responsável pela autodigestão das células acinares, e a catepsina B pela necroptose, que representa uma forma de apoptose, a qual ocasiona a destruição de células acinares, também descritas por Louhimo *et al.* (2016)⁸ em camundongos (*Mus musculus*) com pancreatite aguda.

No que diz respeito às repercussões pulmonares precoces, no GPA 2h verificou-se extensa hemorragia intra-alveolar e colabamento compatível com o escore moderado (valor total 2). Nos animais dos grupos 4 e 6h, foi observada pneumonia intersticial linfoplasmocitária e neutrofílica, além de congestão vascular, sugerindo escore de maior gravidade (valor total 9).

Aduz-se que as lesões pulmonares se relacionam ao estresse oxidativo na PA, uma vez que espécies reativas ao oxigênio - ROS (*Reactive oxygen species*) produzidas no pâncreas nos estágios iniciais da doença, participam da ativação de vias de sinalização que regulam a expressão gênica de mediadores inflamatórios. Esta ativação resulta em aumentos na produção de citocinas e quimiocinas, gerando o desenvolvimento de uma resposta inflamatória sistêmica onde diferentes órgãos e/ou sistemas podem ser afetados.⁷

Desse modo, nos animais submetidos à LDBP, os achados histológicos precoces de edema pulmonar, congestão e hemorragia intra-alveolar, assim como os achados histológicos de edema intersticial e infiltração de células após 4h, mostraram-se compatíveis com a SDRA, corroborando com os achados descritos em camundongos (*Mus musculus*) e outras espécies.⁸

A ausência de diferenças histológicas e de concentrações enzimáticas entre os ratos submetidos à LDBP nos tempos de 4 e 6h, sugeriu que a SDRA se desenvolva indistintamente durante estes períodos. O lapso temporal mostrou-se razoável, haja vista a elevada taxa metabólica na espécie.

Cumprido esclarecer, que a fisiopatologia das repercussões pulmonares da pancreatite aguda humana são complexas. No entanto, três diferentes fases sequenciais da SDRA destacam-se: a fase exsudativa, durante os primeiros dias, caracterizada por lesão alveolar difusa e microvascular, necrose de pneumócitos tipo I e infiltração de células inflamatórias no interstício pulmonar.¹²

De modo análogo, nos tempos de 4 e 6h após a LDBP, observou-se intenso infiltrado inflamatório intersticial pulmonar composto por linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, assim como lesão alveolar difusa e subsequente colabamento.

Talukdar *et al.* (2016), aduziram que a fase fibroproliferativa do terceiro ao sétimo dia, caracteriza-se por hiperplasia de pneumócitos tipo III, proliferação fibroblástica e regeneração pulmonar; Já a terceira fase (fibrótica) ocorre em pacientes com SDRA persistente por mais de duas semanas.¹² Ademais, a disfunção da barreira endotelial, ativação de neutrófilos, monócitos e macrófagos e a expressão de moléculas de adesão e sinalização são ocasionadas por proteases derivadas de neutrófilos polimorfonucleares, mediadas pelo fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e MCP1, com o envolvimento de mastócitos durante a ativação leucocitária.^{12,14}

Os achados histológicos do presente estudo mostraram intensa infiltração neutrofílica pulmonar, corroborando com o estudo experimental em ratos de Whitcomb (2010)¹⁷. Nele, o autor citou que o sequestro de neutrófilos mostrou ser característico da LPA/SDRA e ocorre devido às alterações no trânsito de neutrófilos para o parênquima pulmonar, onde libera agentes citotóxicos. O autor aventou que os neutrófilos são sequestrados e ativados na microvascularização pulmonar na fase inicial da lesão pulmonar associada com a pancreatite aguda, e esta ativação leva à liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS- *Reactive oxygen species*),

peptídeos catiônicos, eicosanoides e enzimas proteolíticas, envolvidas no mecanismo de defesa. No entanto, quando liberadas de forma desregulada, destroem as células pulmonares e ocasionam a LPA/SDRA. Os neutrófilos também liberam citocinas e quimiocinas que intensificam a resposta inflamatória, e os macrófagos pulmonares participam da disfunção endotelial e de pneumócitos tipo II, além da liberação de metaloproteinases de matrizes (MMP).

Há que se fazer, uma comparação entre o tempo de vida do rato (2-3 anos) e a expectativa média de vida humana (70-80 anos). Num estudo de revisão, Andreollo *et al.* (2012)¹, citaram que um dia de vida de um rato sexualmente maduro (\pm 3 meses de idade) corresponde a cerca de 30 dias em *anima nobile*.

Por analogia, em nosso estudo duas e quatro horas após a LDBP, equivalem a aproximadamente 2,5 a 5 dias humanos, período evolutivo descrito na literatura médica em que ocorre a falha persistente de um ou múltiplos órgãos e taxa de mortalidade superior a 30%².

Algumas limitações, porém, podem ser aventadas ao presente estudo. Foram utilizados animais hípidos e portanto, sem afecções pancreáticas ou comorbidades. A ausência do uso de biomarcadores moleculares também limitou nossa compreensão acerca do processo inflamatório.

CONCLUSÕES

Caracterizou-se as repercussões pulmonares precoces da pancreatite aguda induzida pela LDBP em *Rattus norvegicus*, demonstrando este, ser um modelo viável para estudos fisiopatológicos da doença.

REFERÊNCIAS

1. Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig.*

2012;25(1):49-51. doi: 10.1590/s0102-67202012000100011. PMID: 22569979.

2. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis 2012: Revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut.* 2013;62:102-11. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302779. PMID: 23100216.

3. Bhatia M, Wong FL, Cao Y, Lau HY, Huang J, Puneet P, Chevali L. Pathophysiology of acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2005;5(2-3):132-44. doi: 10.1159/000085265. PMID: 15849484.

4. Elder ASF, Saccone GTP, Dixon DL. Lung injury in acute pancreatitis: Mechanisms underlying augmented secondary injury. *Pancreatology.* 2012;12(1):49-56. doi: 10.1016/j.pan.2011.12.012. PMID: 22487475.

5. Forsmark CE, Swaroop Vege S, Wilcox CM. Acute Pancreatitis. *New England Journal of Medicine.* 2016;375(20):1972-81. doi: 10.1056/NEJMra1505202. PMID: 27959604.

6. Hazra N, Gulliford M. Evaluating pancreatitis in primary care: a population-based cohort study. *British Journal of General Practice.* 2014;64(622): e295-e301. doi:10.3399/bjgp14X679732

7. Lee WL, Downey GP. Neutrophil activation and acute lung injury. *Curr Opin Crit Care.* 2001;7(1):1-7. doi: 10.1097/00075198-200102000-00001. PMID: 11373504.

8. Louhimo J, Steer ML, Perides G. Necroptosis Is an Important Severity Determinant and Potential Therapeutic Target in Experimental Severe Pancreatitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2016;2(4):519-35. doi: 10.1016/j.jcmgh.2016.04.002. PMID: 27642624; PMCID: PMC5020563.

9. Pezzilli R, Morselli-Labate AM, Mantovani V, et al. Mutations of the CFTR gene in pancreatic disease. *Pancreas.* 2003;27(4):332-6. doi: 10.1097/00006676-200311000-00011. PMID: 14576497.

10. Saloman JL, Albers KM, Cruz-Monserrate Z, Davis BM, Edderkaoui M, Eibl G, Epouhe AY, Gedeon JY, Gorelick FS, Grippo PJ, Groblewski GE, Husain SZ, Lai KKY, Pandol SJ, Uc A, Wen L, Whitcomb DC. Animal Models: Challenges and Opportunities to Determine Optimal Experimental Models of Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Pancreas*. 2019;48(6):759-79. doi: 10.1097/MPA.0000000000001335. PMID: 31206467; PMCID: PMC6581211.
11. Samuel I, Yuan Z, Meyerholz DK, Twait E, Williard DE, Kempuraj D. A novel model of severe gallstone pancreatitis: murine pancreatic duct ligation results in systemic inflammation and substantial mortality. *Pancreatology*. 2010;10(5):536-44. doi: 10.1159/000320776. PMID: 20975317; PMCID: PMC2992635.
12. Talukdar R, Sareen A, Zhu H, et al. Release of Cathepsin B in Cytosol Causes Cell Death in Acute Pancreatitis. *Gastroenterology*. 2016;151(4):747-58.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2016.06.042
13. Tomaszewski JF Jr. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med*. 2000;21(3):435-66. doi: 10.1016/s0272-5231(05)70158-1. PMID: 11019719.
14. Vrolyk V, et al. Lung Inflammation Associated With Clinical Acute Necrotizing Pancreatitis in Dogs. *Veterinary Pathology*. 2017;54(1):129-40. doi: 10.1177/0300985816646432. PMID: 27169882.
15. Wang X, Sun Z, Börjesson A, Andersson R. Inhibition of platelet-activating factor, intercellular adhesion molecule 1 and platelet endothelial cell adhesion molecule 1 reduces experimental pancreatitis-associated gut endothelial barrier dysfunction. *Br J Surg*. 1999;86(3):411-16. doi: 10.1046/j.1365-2168.1999.01028.x. PMID: 10201790.
16. Watson P. Pancreatitis in dogs and cats: Definitions and pathophysiology. *Journal of Small Animal Practice*. 2015;56(1):3-12. doi: 10.1111/jsap.12293. PMID: 25586802.
17. Whitcomb DC. Genetic Aspects of Pancreatitis. *Annual Review of Medicine*. 2010;61:413-24. doi: 10.1146/annurev.med.041608.121416. PMID: 20059346.
18. Yang LJ, Wan R, Shen JQ, Shen J, Wang XP. Effect of L-cysteine on remote organ injury in rats with severe acute pancreatitis induced by bile-pancreatic duct obstruction. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2013;12(4):428-35. doi: 10.1016/s1499-3872(13)60067-3. PMID: 23924502.