

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

JOSÉ SEBASTIÃO DOS SANTOS

**EFEITOS DA DERIVAÇÃO BILIODIGESTIVA SOBRE AS ALTERAÇÕES
DA FIBROSE BILIAR SECUNDÁRIA EM RATOS. COMPARAÇÃO ENTRE
AS DERIVAÇÕES BILIODUODENAL E BILIOJEJUNAL COM ALÇA
EXCLUSA DE 15 CENTÍMETROS DE EXTENSÃO**

Tese de Livre-Docência apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para Inscrição em Concurso de Títulos e Provas para o cargo de Professor Associado junto ao Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, José Sebastião

Efeitos da derivação biliodigestiva sobre as alterações da fibrose biliar secundária em ratos. Comparação entre as derivações bilioduodenal e biliojejunal com alça exclusiva de 15 centímetros de extensão. Ribeirão Preto, 2007.

125p. : il. : 30 cm

Tese de Livre-Docência apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1.Icterícia obstrutiva, 2.Fibrose biliar secundária, 3.Derivação biliodigestiva, 4.Colangite, 5.Hipertensão portal, 6.Células estreladas, 7.Regeneração hepática.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa, Eliana
Aos meus filhos, Marina, Heitor e Beatriz
Por compreenderem o meu envolvimento com este trabalho

Reverência

Às Instituições Públicas que sempre proporcionaram me grandes oportunidades, com destaque especial à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e o seu Hospital das Clínicas.

À Profa Dalvina Blanco Kater, por ter proporcionado me uma segunda visão do mundo: a minha alfabetização.

Aos Profs. Drs. José Liberato Ferreira Caboclo e Dioclésio Campos Júnior pela força dos exemplos de dignidade, ética e profissionalismo.

Aos Profs. Drs. Rui E. Ferreira Santos e Pier Luigi Castelfranchi, pelo pioneirismo na organização do Departamento de Cirurgia e da Disciplina de Gastroenterologia Cirúrgica. *In memoriam.*

Agradecimentos especiais

Ao Dr. Murilo Ferreira de Andrade, à época da execução desse estudo, graduando e bolsista de iniciação científica pelo CNPq, pelo rigor no desenvolvimento da metodologia delineada. No momento, como médico residente de cirurgia, pela sua dedicação e competência.

Ao Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá, pela confiança, pelos incentivos constantes, e por ter me permitido compartilhar de alguns momentos dos seus 20 anos de forte liderança e influência progressista nos rumos do Complexo Hospital das Clínicas-Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Reginaldo Ceneviva, pelas oportunidades proporcionadas e pelos ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Orlando de Castro e Silva Júnior, pelo desenvolvimento das boas condições de trabalho e de pesquisa que possibilitaram a realização desse estudo.

Ao Prof. Dr. Ajith Kumar Sankarankutty, pela ética, pela competência e pelo engajamento no desenvolvimento das atividades da disciplina de Gastroenterologia Cirúrgica.

Ao Profs. Drs. Benedicto Oscar Colli e Carlos Gilberto Carlotti Júnior, pelo estímulo à realização dessa etapa na carreira universitária.

Ao Prof. Dr Paulo Roberto Évora pelo entusiasmo e pelos novos desafios que tem apresentado ao Departamento de Cirurgia e Anatomia

Aos Profs.Drs. José Luiz Pimenta Módena e Sandro Scarpelini, pela compreensão e pelo auxílio permanentes.

Ao Dr. José Eduardo Brunaldi, pela competência e pela presteza na lida com os pacientes portadores de colestase extra-hepática.

Aos Drs. Wilson Salgado Júnior e Rafael Kemp, pela amizade e auxílio nas discussões desse estudo.

Ao Prof. Dr. Fernando Queiroz da Cunha, pelo acolhimento e cooperação constantes.

Ao Prof. Dr. Luciano Neder Serafim, pelo entusiasmo na análise histológica.

Ao mestre em Saúde na Comunidade, Davi Casale Aragon, do Centro de Métodos Quantitativos, pelo envolvimento na análise estatística.

Ao Prof. Dr. Amilton Antunes, pela abertura de espaço no seu Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental e ao Sr. Antônio Renato Meirelles Silva pelo apoio técnico.

Aos Srs. Sebastião Assis Mazzeto, Paulo Alves Júnior, Wagner Andrade de Oliveira, José Carlos Vani, pelo apoio no Laboratório de Cirurgia Experimental.

Às Sras. Maria Eliza Jordani de Souza, Maria Aparecida Neves Cardoso Piccinato, Clarice Fleury Fina Franco e Maria Cecília Jordani Gomes, pela realização cuidadosa da análise bioquímica tecidual e do sangue.

Às Sras. Ana Kátia dos Santos e Giuliana Bertozzi Francisco do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP, pela colaboração técnica durante os experimentos.

À Bióloga, Maria José Leite e à Farmacêutica-Bioquímica, Maria Cristina Leitão Menezes da Silva, pela presteza na análise microbiológica.

À bibliotecária Maria Cristina M. Ferreira pela disposição e pela zelosa revisão final

Aos servidores, Marlene Lúcio, Lauceia Conrado, Izabel R. Vieira, Elis Regina Alves e Peter Camargo, pela inestimável disposição em ajudar, o meu reconhecimento.

ABREVIATURAS

ADP	- Adenosina difosfato
ADP:0	- Razão ADP/oxigênio
ALT	- Alanino aminotransferase
ANOVA	- <i>analysis of variance</i>
AST	- Aspartato aminotransferase
ATP	- Adenosina trifosfato
BD	- Bilirrubinas direta
BI	- Bilirrubina indireta
BT	- Bilirrubinas totais
CPRE	- Colangiopancreatografia retrógrada endoscópica
DBD	- Derivação bilioduodenal
DBJ	- Derivação biliojejunal
Dp	- Desvio padrão
EDTA	- Etileno Diamina Tetraacetato Dissódico
EGTA	- Ácido etinoglicol bis (beta-éter aminoetil)-N`, N`, N` tetracético
Elisa	- Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima
FA	- Fosfatase alcalina
FMRP-USP	- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HEPES	- Ácido (N-[2-hidroxietil]-piperazina-N`-[2-etanosulfônico])
HCFMRP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
KCl	- Cloreto de potássio
KH ₂ PO ₄	- Bifosfato de potássio
KOH	- Hidróxido de potássio
MDA	- Malondialdeído
MgCl ₂	- Cloreto de magnésio
NO	- Óxido Nítrico
PBS	- <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PM	- Potencial de Membrana
RCR	- Razão de Controle Respiratório
REB	- Refluxo Enterobiliar
SAMU	- Sistema de Atendimento Móvel de Urgência
SUS	- Sistema Único de Saúde
Tris t	- Tris (hidroximetil) aminometano

Santos, JS. *Efeitos da derivação biliodigestiva sobre as alterações da fibrose biliar secundária em ratos. Comparação entre as derivações bilioduodenal e biliojejunal com alça exclusiva de 15 centímetros de extensão*. 2007. 125p. [tese – livre docência]. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007. 125p.

RESUMO

As derivações bilioduodenal (DBD) e biliojejunal (DBJ) são efetivas no tratamento da obstrução biliar, mas os estudos acerca dos seus efeitos sobre as lesões hepáticas decorrentes da fibrose biliar secundária são escassos e os resultados são controversos. Nesse estudo, foram comparados os efeitos da DBD e da DBJ com alça exclusiva de 15 cm na reparação das lesões hepáticas secundárias à obstrução biliar crônica. Ratos com 4 semanas de obstrução biliar foram submetidos à DBD (n=10) e à DBJ (n=10) e estudados 3 meses após, mediante dosagem sérica das bilirrubinas totais e frações, da fosfatase alcalina, das aminotranferases, do óxido nítrico e da albumina. O metabolismo energético mitocondrial foi verificado pelo cálculo da razão do controle respiratório (RCR) e do índice de fosforilação oxidativa e o estresse oxidativo do fígado mediante dosagem do malondialdeído (MDA). A análise morfométrica do fígado incluiu o cálculo das massas estimadas dos hepatócitos, dos ductos biliares, da fibrose e a contagem das células estreladas. Após DBD e BBJ, houve redução significativa dos níveis séricos das enzimas canaliculares e celulares, mas os valores séricos das bilirrubinas totais, da fosfatase alcalina e da albumina foram equivalentes àqueles do grupo controle, apenas após DBJ. Os dois tratamentos restabeleceram o índice de fosforilação oxidativa e os níveis de MDA, mas a RCR foi equivalente ao grupo controle, apenas após DBJ. As massas estimadas do fígado, do baço e da fibrose regrediram de forma significativa após DBD e DBJ. A regressão da massa esplênica foi mais significativa após DBJ, mas apenas os valores da massa hepática foram equivalentes aos obtidos no grupo controle. Por outro lado, o número de células estreladas aumentou após DBD e DBJ e manteve-se significativamente maior após os dois tratamentos, na comparação com o grupo controle. Após DBD e DBJ foram observados refluxo enterobiliar, contaminação biliar e exacerbação da inflamação, sobretudo na zona 1 do lóbulo hepático. Conclui-se que as alterações colestáticas e metabólicas melhoram após as duas modalidades de derivação biliar, mas a DBJ é mais efetiva na reparação dessas alterações. Por outro lado, os tratamentos não são suficientes para reparar completamente as lesões morfológicas e, os efeitos adversos do refluxo enterobiliar e da contaminação biliar parecem induzir a inflamação hepática, o aumento das células estreladas e a manutenção da hipertensão portal.

Descritores: Icterícia obstrutiva, fibrose biliar secundária, derivação biliodigestiva, colangite, hipertensão portal, células estreladas, regeneração hepática.

Santos, JS. *Effects of biliodigestive shunt on changes in secondary biliary fibrosis in rats. Comparison of bilioduodenal and biliojejunal shunts with an excluded 15 cm-long loop*. 2007. 125p. [tese – livre docência]. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007. 125p.

SUMMARY

Bilioduodenal (BDS) and biliojejunal (BJS) shunts are effective for the treatment of biliary obstruction, but few studies have compared their effect on hepatic injuries due to secondary biliary fibrosis and their results are controversial. In the present study the effects of BDS and BJS with the exclusion of a 15 cm loop were compared regarding the repair of hepatic injuries secondary to chronic biliary obstruction. Rats with 4 weeks of biliary obstruction were submitted to BDS (n=10) or BJS (n=10) and studied 3 months later by serum determination of total bilirubins and fractions, alkaline phosphatase, aminotransferases, nitric oxide, and albumin. Mitochondrial energy metabolism was determined by calculating the respiratory control ratio (RCR) and oxidative phosphorylation rate and liver oxidative stress was determined by malondialdehyde (MDA) quantitation. Morphometric analysis of the liver included the calculation of estimated hepatocyte, bile duct and fibrosis mass and stellate cell count. After BDS and BJS there was a significant reduction of the serum levels of canalicular and cellular enzymes, but the serum values of total bilirubins, alkaline phosphatase and albumin were equivalent to those for the control group only after BJS. Both treatments re-established oxidative phosphorylation rate and MDA levels, but RCR values were similar to those for the control group only after BJS. Estimated liver, spleen and fibrosis masses regressed in a significant manner after both BDS and BJS. The regression of spleen mass was more significant after BJS, but only hepatic mass values were equivalent to those obtained for the control group. On the other hand, the number of stellate cells increased after both BDS and BJS and continued to be significantly higher compared to control. Enterobiliary reflux, biliary contamination and exacerbation of inflammation, especially in zone 1 of the hepatic lobule, were observed after both BDS and BJS. We conclude that cholestatic and metabolic alterations improved after both bile shunt modalities, but that BJS was more effective in repairing these alterations. On the other hand, these treatments are not sufficient to fully repair the morphological injuries, and the adverse effects of enterobiliary reflux and of biliary contamination seem to induce hepatic inflammation, increased numbers of stellate cells and the maintenance of portal hypertension.

Key words: Obstructive jaundice, secondary biliary fibrosis, biliodigestive shunt, cholangitis, portal hypertension, star cells, liver regeneration.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODO.....	17
2.1. Animais de experimentação.....	18
2.2. Distribuição dos animais em grupos e subgrupos.....	18
2.3. Técnica operatória.....	19
2.4. Análise do sangue.....	21
2.5. Análise da função mitocondrial.....	22
2.5.1. Isolamento das mitocôndrias hepáticas.....	22
2.5.2. Determinação da Proteína Mitocondrial.....	22
2.5.3. Estudo da Respiração Mitocondrial.....	22
2.5.4. Determinação do Potencial de Membrana Mitocondrial.....	23
2.6. Quantificação do malondialdeído hepático.....	23
2.7. Análise microbiológica.....	24
2.8. Análise histológica do fígado.....	24
2.9. Análise estatística.....	27
3. RESULTADOS.....	28
3.1. Evolução após indução da colestase e derivação biliar.....	29
3.2. Análise bioquímica do sangue.....	31
3.2.1. Dosagem das bilirrubinas totais e frações, das aminotransferases e da fosfatase alcalina.....	31
3.2.2. Dosagem da albumina.....	35
3.2.3. Dosagem do óxido nítrico.....	36
3.3. Contagem dos leucócitos no sangue.....	37
3.4. Análise microbiológica da bile.....	38
3.5. Análise histológica do fígado.....	39
3.5.1. Análise microscópica qualitativa.....	39
3.5.2. Análise microscópica quantitativa da fração de volume dos componentes histológicos do fígado.....	41
3.5.3. Análise da massa estimada do fígado e microscópica quantitativa dos seus componentes histológicos.....	46
3.5.4. Análise da massa estimada do baço.....	50
3.6. Análise bioquímica tecidual do fígado.....	50
3.6.1. Função mitocondrial.....	50
3.7. Análise do malondialdeído hepático.....	55
4. DISCUSSÃO.....	57
5. CONCLUSÕES.....	79
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
7. APÊNDICE A.....	95
8. APÊNDICE B.....	111

1. INTRODUÇÃO

A obstrução biliar extra-hepática pode ser decorrente da litíase biliar, de estenoses de origem inflamatória e traumática, das compressões extrínsecas e dos tumores da via biliar, da papila, do pâncreas e do duodeno. A obstrução biliar crônica induz à proliferação ductal, à fibrose e à cirrose hepática que se acompanham de hipertensão portal e insuficiência hepatocelular, no homem (AFROUDAKIS; KAPLOWITZ, 1981; LESUR et al., 1993) e em animais de experimentação (GROSS et al., 1987; KONTOURAS; BILLING; SCHEUER, 1984).

O intervalo de tempo entre a instalação da obstrução biliar e o aparecimento da cirrose, no homem, varia amplamente. Após o início da icterícia, a cirrose surge, em média, 7,1 anos (variação de 0,5-26 anos) nos pacientes com estenose biliar traumática; 4,6 anos (variação de 0,3 a 17 anos) nos pacientes com cálculos no hepatocolédoco e 0,8 anos (variação de 0,2 a 1,5 anos) nos pacientes com obstrução por tumor. Assim, a cirrose biliar secundária desenvolve-se mais precocemente na obstrução biliar completa, como ocorre em casos de tumores, se comparada à obstrução parcial presente na estenose traumática e inflamatória (SCOBIE; SUMMERSKILL, 1965). Esses autores registraram o desenvolvimento de cirrose biliar em um terço dos pacientes com um ano de colestase. O menor intervalo de tempo entre a instalação da obstrução biliar e a confirmação histológica da cirrose foi de 3 meses.

Em ratos, a fibrose biliar secundária, caracterizada pela proliferação de ductos biliares e fibrose nos espaços portais, instala-se duas semanas após ligadura do ducto biliar (ABEL-AZIZ et al., 1990; DUTRA et al., 2007; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001). Na seqüência, ocorre fragmentação do parênquima hepático com aparecimento dos nódulos parenquimatosos e, por volta de quatro semanas, a cirrose biliar já está presente. Essas alterações estruturais são acompanhadas de esplenomegalia, o que sugere o desenvolvimento de hipertensão portal (CASTRO E SILVA JUNIOR et al., 1995; JOHNSTONE; LEE, 1976; KONTOURAS; BILLING; SCHEUER, 1984; SANTOS et al. 1998; ZIMMERMANN et al., 1992).

A seqüência de alterações morfológicas do fígado em ratos submetidos à ligadura dupla da via biliar isolada ou associada à canulação mediante emprego de prótese foi descrita de forma detalhada. Após 5 dias da obstrução biliar foram registrados, nos dois modelos experimentais, proliferação dos ductos biliares e infiltração discreta de neutrófilos ao redor dos ductos. No parênquima hepático havia inúmeros hepatócitos em fase mitótica e focos de necrose. Após 10 dias, os espaços portais aumentaram pela deposição da fibrose e proliferação ductal; havia formação de pontes fibrosas porta-porta e o infarto biliar caracterizado por necrose de hepatócitos e acúmulo de fibrina foi ocasionalmente notado, principalmente nas áreas periportais. Ao fim da segunda semana, havia união dos espaços portais por meio de

septos fibrosos, com descaracterização da organização lobular normal, formação dos nódulos de regeneração e fibrose concêntrica. Todos os animais com mais de 30 dias de colestase apresentavam cirrose, hipertensão portal caracterizada por esplenomegalia e sinais de descompensação hepática com presença de ascite. Houve elevação das bilirrubinas séricas com tendência à estabilização entre o 10^o e 15^o dias de obstrução biliar e decréscimo a seguir. A colangite foi mínima, a julgar pela discreta infiltração leucocitária observada nos espaços portais (KONTOURAS; BILLING; SCHEUER, 1984).

As avaliações qualitativa e quantitativa das lesões hepáticas de ratos submetidos à ligadura dupla da via biliar entre o 29^o e o 40^o dias de colestase demonstram que num extremo há proliferação ductal, predominantemente interlobular com preservação do parênquima hepático, enquanto em outros animais, a proliferação ductal ocorre ao acaso, difundindo-se entre os lóbulos com separação dos hepatócitos em pequenas ilhas. Em alguns animais, a proliferação ductal difunde-se das duas maneiras descritas, podendo ocorrer predominância de um dos tipos. Assim, não há cirrose biliar, já que nenhum rompimento do parênquima é detectado e a fibrose não é excessiva (JOHNSTONE; LEE, 1976).

Há indícios de que o aumento da pressão intracanalicular provocado pela obstrução biliar, associado ao acúmulo de bilirrubina e ácidos biliares estimule a hiperplasia e a proliferação do epitélio canalicular. As células ductais proliferadas são originárias do epitélio já existente e os ductos biliares proliferam-se por alongamento e não por brotamento ou alargamento (SLOTT; LIU; TAVOLONI, 1990).

A proliferação ductal inicialmente restringe-se ao espaço portal. Após alguns dias, instala-se um processo inflamatório discreto, acompanhado pela proliferação e ativação das células estreladas que passam a secretar grande quantidade de matriz extracelular (CLÉMENT et al., 1993). Estas alterações podem progredir em direção aos lóbulos do fígado formando septos fibróticos que fragmentam o parênquima hepático dando origem aos nódulos parenquimatosos (FELDMAN, 1995).

Durante o desenvolvimento da fibrose/cirrose há aumento da produção e acúmulo de matriz extracelular composta de colágeno, glicoproteínas e proteoglicanas nos espaços perisinusoidais a partir das células estreladas (CLÉMENT et al., 1993). As células estreladas transformam-se e adquirem a forma de miofibroblastos (RAMADORI, 1992), proliferam-se e secretam componentes que podem alterar a configuração geométrica dos sinusóides e contribuir para o desenvolvimento da hipertensão portal (HENRIKSEN; LASSEN, 1988) (FIGURA 1).

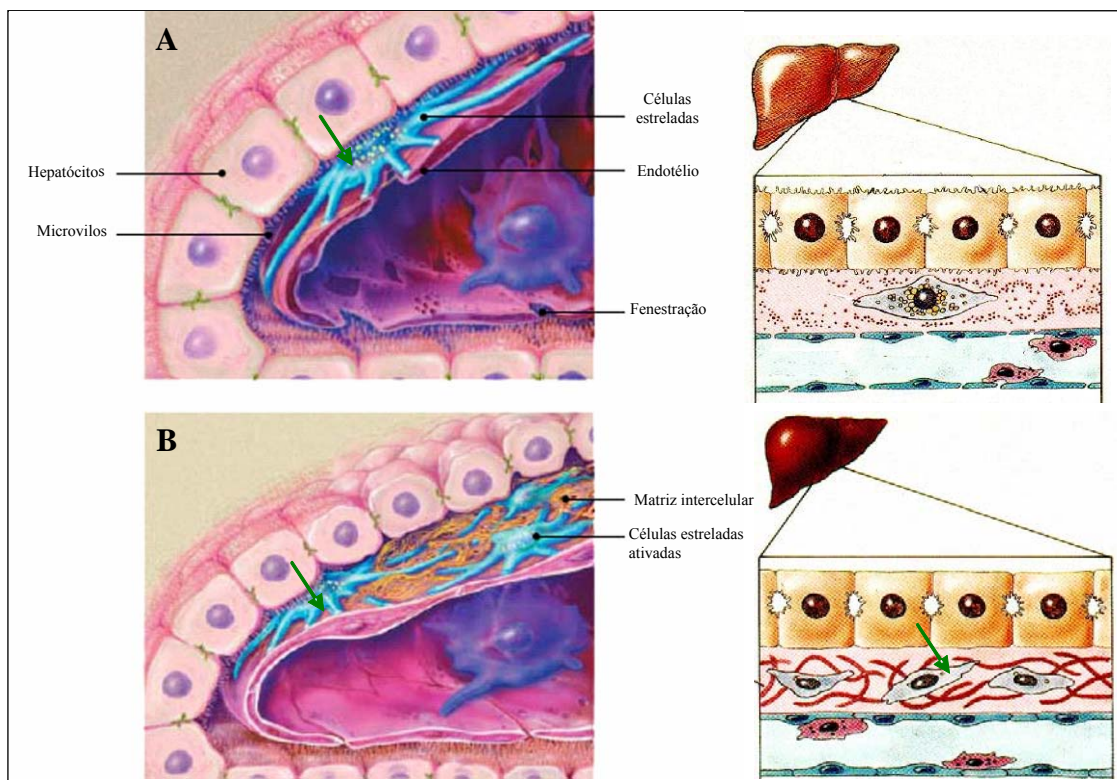


FIGURA 1- Representação esquemática do fígado normal (A) e com lesão (B). Após lesão hepática, as células estreladas são ativadas e secretam colágeno na matriz intercelular. Com as modificações na interação entre as células e a matriz, os hepatócitos perdem os microvilos e, as células endoteliais, as fenestrações. Adaptado de Friedman (1993) e Friedman e Arthur (2002)

Há vários mecanismos que podem contribuir para o desenvolvimento da hipertensão portal na colestase extra-hepática crônica (REICHEN, 1988). A deposição de colágeno no espaço de Disse ou o edema dos hepatócitos, ou ambos podem conduzir à deformação com estreitamento sinusoidal e aumento da resistência vascular hepática (SHIBAYAMA; NAKATA, 1989). Ainda, a hiperplasia das células estreladas do fígado pode, por si só, ou por contração dos seus processos dendríticos, induzir ao retraimento do leito sinusoidal e também aumentar a resistência vascular do fígado (KAWADA et al., 1993).

Na colestase extra-hepática crônica, além da proliferação ductal, da fibrose e da fragmentação do parênquima hepático, aparece infiltrado inflamatório misto de intensidade discreta a moderada, nos espaços portais. Essas alterações são acompanhadas de leucocitose intensa e não há contaminação da bile. Após a derivação biliar, apesar da regressão da proliferação ductal, da fibrose e da melhora da arquitetura hepática, ocorre contaminação da bile por germes gram negativos e acentuação do infiltrado inflamatório misto (SANTOS et al., 1998). Há, ainda, o relato de retardo na regressão da hipertensão portal indicando outro descompasso entre a recuperação histológica e a reparação do fluxo portal (ARONSON et al., 1993; KRÄHENBÜHL; SHAFNER; KRÄHENBÜHL, 1998; ZIMMERMANN et al., 1992).

A obstrução biliar experimental acompanha-se de endotoxemia, translocação bacteriana, redução da imunidade celular e indução da liberação de citocinas como o fator de necrose tumoral e as interleucinas (BEMELMANS et al., 1992, 1996). A inflamação crônica está presente na colestase e após a derivação biliar e nessa condição, a elevação das citocinas é proeminente (ANDUS; BAUER; GEROK, 1991). Desta forma, por indução do óxido nítrico sintase, as citocinas podem modular a contratilidade das células estreladas na doença hepática crônica.

Há achados experimentais convincentes de que o óxido nítrico, em combinação com a endotelina, está envolvido no processo de relaxamento/contração das células estreladas, modificando o espaço sinusoidal e provavelmente regulando a pressão sinusoidal (HARTLEB et al., 1994; RICHARD et al., 1995). A obstrução biliar em ratos induz a redução da produção de nitrato/nitrito e o decréscimo da enzima óxido nítrico sintase que converte L arginina em óxido nítrico e é um potente vasodilatador e modulador da contratilidade das células estreladas (KURZEN et al., 1995, ZIMMERMANN et al., 1996). Por outro lado, a endotelina é um potente vasoconstrictor e está aumentada em pacientes e animais com cirrose (GERBES et al., 1995; TSAI et al., 1995). Esses achados podem justificar a lenta recuperação da hipertensão portal após descompressão biliar na colestase extra-hepática crônica.

Os mecanismos que induzem a deterioração da função hepática em animais com colestase crônica são pouco compreendidos. A proliferação hepatocelular não aumenta expressivamente e, aparentemente, a massa de hepatócitos mantém-se na fibrose (JOHNSTONE; LEE, 1976) e na cirrose (GALL; BATHAL, 1990). Assim, a quantidade total dos hepatócitos reduz-se discretamente nos ratos com obstrução biliar que se prolonga por mais de 30 dias; essa redução é muito menor que a registrada na proporção volumétrica dos hepatócitos e pela avaliação histológica, visto que há aumento global do fígado (GALL; BATHAL, 1990). A estimativa da massa dos componentes histológicos do fígado, utilizando-se de dados morfométricos e da massa do órgão, acrescida do índice de fosforilação oxidativa da galactose que se correlaciona com a massa hepatocítica, reforça o conceito de que os animais sobreviventes à obstrução biliar de 8 semanas, mantêm a massa hepatocítica (GROSS et al., 1987).

Com a manutenção da massa total dos hepatócitos nos animais com obstrução biliar crônica, a hepatomegalia é resultante do aumento da massa de ductos que predomina sobre a fibrose, e assim as alterações funcionais parecem decorrer da colestase e não da cirrose (GROSS et al., 1987, GALL; BATHAL, 1990). Todavia, conforme já registrado, as lesões hepáticas decorrentes da colestase extra-hepática crônica em ratos podem ser heterogêneas

(JOHNSTONE; LEE, 1976) e há registros de redução da massa hepatocítica com aumento da massa de fibrose, em relação à massa de ductos biliares (SANTOS, 1997). O desenvolvimento, a gravidade e a extensão das alterações morfológicas que ocorrem no fígado na presença de colestase extra-hepática dependem do grau, da duração e do local da obstrução (KOCK-WESER et al., 1952; TRAMS; SYMEONIDIS, 1957), do peso e da idade dos animais (MEDEIROS; FREITAS; ANDRADE, 1988) e também da técnica de obstrução biliar (SANTOS, 1997).

Embora existam evidências de preservação da massa hepática na colestase extra-hepática crônica experimental, a lesão dos hepatócitos pode ser determinada por vários fatores. A retenção de sais biliares e das bilirrubinas no interior dos hepatócitos exerce efeitos tóxicos com ação desacopladora da cadeia respiratória mitocondrial (MUSTAFA; COWGER; KING, 1969). Por outro lado, o aumento da pressão hidrostática na árvore biliar, sob efeito da obstrução, pode comprimir o sistema porta com decréscimo do fluxo portal (SAKODA; ATIHK, 1970) e desenvolvimento de anóxia ou isquemia funcional dos hepatócitos (ROSELINO; CASTRO E SILVA JUNIOR; CENEVIVA, 1992).

Em associação às alterações estruturais e vasculares decorrentes da obstrução biliar extra-hepática observam-se também alterações no metabolismo energético, em particular do glicogênio. Após 4 semanas de obstrução biliar extra-hepática, em ratos, há redução da síntese e dos estoques de glicogênio hepático (KRÄHENBÜHL et al., 1996), o que é reversível mediante alívio da obstrução biliar (ARONSON et al., 1993; KRÄHENBÜHL et al., 1996).

O acúmulo de substâncias excretadas pela bile, tais como: bilirrubinas (MUSTAFA; COWGER; KING, 1969), ácidos biliares (KRÄHENBÜHL et al., 1994) e colesterol (KRÄHENBÜHL; STUCKI; REICHEN, 1992) deteriora o metabolismo energético na colestase crônica. Enquanto a bilirrubina e os ácidos biliares pioram a função do complexo enzimático da cadeia respiratória diretamente, o colesterol é incorporado na membrana mitocondrial e aumenta a sua rigidez (VAN BITTERSWIJK; VAN DER MEER; HILKMAN, 1987), produzindo possivelmente o decréscimo na função das enzimas das superfícies da membrana mitocondrial. O decréscimo dos mecanismos antioxidativos, em particular, da concentração do conteúdo mitocondrial de glutatona e ubiquinona, parece ser um mecanismo importante de hepatotoxicidade associado à colestase crônica (KRÄHENBÜHL et al., 1995). Desta forma, as alterações no metabolismo mitocondrial, na vigência da colestase crônica, incluem o decréscimo no transporte de elétrons da atividade enzimática envolvida na oxidação (KRÄHENBÜHL et al., 1994) e a redução dos mecanismos de defesa antioxidativos (KRÄHENBÜHL et al., 1995).

Por outro lado, o aumento das atividades metabólicas no fígado requer mais energia na forma de ATP e as mitocôndrias aumentam a capacidade de produção de energia para manter as reservas, desenvolvendo capacidade compensatória para manter as funções celulares e reparar lesões (FARBER; CHIEN; MITTNACHT, 1981; OZAWA, 1992; SANTOS, 1997). O aumento do consumo de oxigênio no estado 3 (após adição de ADP) e no estado 4 (em condições basais) reflete a tentativa de provimento energético. A recuperação do metabolismo energético é parcial após duas semanas de derivação biliar, indicando que a remoção das toxinas biliares não é suficiente para restabelecer o metabolismo energético no fígado (KRÄHENBÜHL; SCHAFNER; KRÄHENBÜHL, 1998).

As recuperações, histológica, excretora e funcional do fígado parecem estar relacionadas à intensidade das anormalidades decorrentes da obstrução biliar, ao tipo de derivação biliar empregada e ao tempo de seguimento após drenagem biliar (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS, 1997; ZIMMERMANN et al., 1992). A escolha da modalidade de derivação biliar, na prática clínica, depende da natureza da doença, das características anatômicas da via biliar e dos recursos técnicos disponíveis.

Dentre os diversos métodos de tratamento da colestase extra-hepática, dois tipos de derivação são amplamente difundidos: a derivação bilioduodenal látero-lateral (DBD) e a derivação biliojejunal (DBJ). Todavia, quando se faz necessária uma derivação bilioentérica, a opção, em geral, recai sobre a DBJ, sobretudo no tratamento de lesões próximas ao hilo hepático (MATTEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993; HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000).

A seleção entre essas duas modalidades terapêuticas ainda é baseada nos aspectos técnicos e na incidência de colangite pós-operatória, sem considerar potenciais efeitos adversos de longo prazo sobre o fígado. Na DBD o conteúdo entérico do duodeno pode refluir para a via biliar e, possivelmente, resultar em colangite. Por outro lado, na DBJ a alça exclusiva, presumivelmente, previne o refluxo enterobiliar e, em tese, pode minimizar a incidência de colangite ascendente.

A obstrução biliar associada ao aumento da pressão intrabiliar é uma condição essencial para o desenvolvimento da colangite experimental (HUANG; BASS; WILLIAMS, 1969). A estenose das anastomoses biliodigestivas e os cálculos residuais são detectados na maioria dos casos de colangite pós-operatória. Por outro lado, dentre os pacientes portadores de colangite, não há uma explicação adequada para a recorrência do quadro em cerca de um terço dos casos que apresentam anastomoses bilioentéricas aparentemente amplas, avaliadas por meio de exames radiológicos e procedimentos cirúrgicos (MATTEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993). Há indícios de que este fenômeno possa decorrer da obstrução parcial

intermitente, particularmente na DBD, por debris decorrentes do refluxo enterobiliar e da contaminação (GOLDMAN; STEER; SILEN, 1983), bem como de estenoses ou de cálculos retidos na via biliar intra-hepática (LONGMIRE; TOMPKINS, 1975).

Assim, há autores que adotam a DBJ com alça exclusiva de Roux como forma de minimizar os efeitos do refluxo enterobiliar (MATTEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993). No entanto, aproximadamente 10 a 15% dos pacientes submetidos a este tratamento sofrem colangite pós-operatória e “*sump syndrome*” (BISMUTH et al., 1978). Na maioria destes pacientes, os sintomas são decorrentes de estenoses da anastomose biliodigestiva ou cálculos recorrentes, todavia, nos casos em que não se observa obstáculo mecânico, a colestase e a proliferação bacteriana podem ser atribuídas ao distúrbio da motilidade da alça de Roux (KLAUS et al., 2001).

A alça jejunal seccionada para a realização do Y de Roux deixa de receber a ação do marcapasso duodenal e a continuidade da propagação da fase III da contração (MIEDEMA et al., 1992). Na seqüência, um novo marcapasso pode desenvolver no meio da alça, mas com baixa freqüência de contrações e às vezes em sentido retrógrado (VANTRAPPEN et al., 1991).

Na avaliação de 100 pacientes submetidos à coledocoduodenostomia, mediante realização de anastomose ampla, não se evidenciaram casos com sinais clínicos de colangite, mesmo após acompanhamento a longo prazo, em média 5 anos e 2 meses, sugerindo que a colangite só ocorre se houver obstrução da anastomose, impedindo o livre fluxo de bile (MADDEN et al., 1970).

Em estudo clínico, comparando a evolução de 8 pacientes submetidos à DBJ e 5 tratados mediante DBD e seguidos, respectivamente, em média 4,5 anos (1-5 anos) e 2,5 anos (1-3 anos), registrou-se um caso de colangite (12%) no grupo DBJ. O fluxo de bile avaliado pelo método de cintilografia demonstrou estase de bile na alça de Roux, com retardo significativo do fluxo de bile até o jejuno proximal (65+-5 min), em comparação ao tratamento com DBD (35+-5 min) e as pessoas sadias (40+-5 min). Os autores sugerem que a estase biliar e a pressão aumentada na alça exclusiva podem causar refluxo, colangite e danos hepáticos permanentes (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000).

Na prática clínica, a fibrose e a cirrose biliar secundária são, freqüentemente, consideradas como estágio final e irreversível da lesão hepática (FRIEDMAN, 1993). A manutenção das anormalidades da função hepática, o desenvolvimento de ascite e de hipertensão portal podem ocorrer mesmo com o desaparecimento das anormalidades clínicas e bioquímicas da colestase e colangite. Assim, o aparecimento de insuficiência hepática

progressiva, após descompressão biliar considerada efetiva, reforça o conceito de irreversibilidade da cirrose biliar (LEEVEY; DVORSCHACK; GNASSI, 1954; SCOBIE; SUMMERSKILL, 1965) e remete ao transplante hepático a oportunidade de cura. Por outro lado, há registros clínicos demonstrando que a descompressão biliar efetiva promove reversão das alterações histológicas hepáticas e da hipertensão portal (BLUMGART, 1978; HAMMEL et al., 2001; YEONG; NICHOLSON; LEE, 1982)

Após tratamento cirúrgico considerado efetivo para obstrução biliar por hepaticolitíase e neoplasia associada à cirrose biliar secundária, observou-se alívio clínico da icterícia, da dor, do prurido e da febre. Todavia, 25% dos pacientes permaneceram com testes anormais de função hepática e desenvolveram ascite, enquanto a hipertensão portal foi registrada em 35% dos pacientes com sangramento decorrente de varizes esofágicas aparecendo, em média, 11 anos depois do tratamento (variação de 1 a 19 anos) (SCOBIE; SUMMERSKILL,1965). Há registros de desaparecimento das anormalidades clínicas e bioquímicas após alívio da obstrução biliar nos pacientes portadores de cirrose biliar secundária, mas com progressão da insuficiência hepática e evolução fatal no período de 1 a 4 anos (LEEVEY; DVORSCHACK; GNASSI, 1954).

A deterioração da função hepática na cirrose biliar secundária pode levar à morte por sepse, hemorragia digestiva e falência hepatocelular (WAY; BERNHOFT; THOMAS, 1981). O tratamento cirúrgico pode ser complexo na coexistência da obstrução biliar e do sangramento pela hipertensão portal. No tratamento de 42 pacientes com cirrose biliar secundária associada à persistência da obstrução biliar e hemorragia por varizes de esôfago, empregou-se a descompressão biliar, a derivação portal ou ambas, e observou-se que o alívio da obstrução biliar foi mais efetivo na ampliação da sobrevivida em comparação à descompressão porto-sistêmica (ADSON; WHYCHULLIS, 1968).

Por outro lado, a derivação espleno-renal foi empregada como tratamento inicial em 18 pacientes com cirrose biliar secundária, com obstrução biliar branda e hipertensão portal grave, sob alegação de que o reparo biliar, como segunda intervenção, seria realizado com menores taxas de sangramento (SEDGWICK; POULANTZAS; KUNE, 1966).

A reversão da cirrose biliar secundária, após descompressão biliar em uma criança com 2 meses de idade, portadora de atresia biliar extra-hepática, foi registrada. O fígado não apresentava nodulação, mas os lobos hepáticos eram maiores que os normais e à microscopia não havia fibrose interlobar completa, necrose e mitoses. A criança não apresentava hipertensão portal. Durante a correção de uma hérnia incisional, 3 anos depois do reparo

biliar, o aspecto macroscópico do fígado era normal, o que foi confirmado pelo exame histopatológico (BUNTON; CAMERON, 1963).

Yeong, Nicholson e Lee (1982) acompanharam a evolução de uma menina de 8 anos portadora de obstrução biliar extra-hepática decorrente de cisto de colédoco, com cirrose biliar secundária e hipertensão portal, tratada por meio de cistojejunosomia em Y de Roux. Houve normalização clínica e bioquímica e, aos 20 anos, a paciente foi submetida à laparotomia exploradora para diagnóstico etiológico de abdômen agudo. Os autores observaram que a vesícula estava hipotrófica e, macroscopicamente, o aspecto da anastomose, do fígado e do baço estava normal. O exame histopatológico comparativo das biópsias hepáticas demonstrou reversão da cirrose com desaparecimento dos nódulos de regeneração e recuperação da arquitetura do fígado com discreta fibrose residual.

Blungart (1978) tratou de uma paciente com 16 anos de idade, portadora de hepatoma, com obstrução dos ductos biliares principal e hepático esquerdo mais infiltração da parede da veia porta do mesmo lado. O tumor foi ressecado, a parede da veia porta foi reparada e o ducto biliar comum foi reconstruído mediante emprego de um tubo transhepático. A análise da biópsia hepática do lobo direito revelou cirrose biliar secundária. Após 6 semanas de tratamento, uma nova biópsia foi realizada por meio de agulha e observou-se recuperação da arquitetura hepática, com mínima fibrose residual no espaço porta.

Hammel et al. (2001) acompanharam a evolução da fibrose biliar, por meio de estudo histopatológico do fígado antes e depois da drenagem bileodigestiva, em 11 pacientes com estenose do colédoco distal secundária à pancreatite crônica. A coledocoduodenostomia foi empregada em 7 casos e 4 pacientes foram submetidos à hepaticojejunosomia (um deles após duodenopancreatectomia). Os autores seguiram os pacientes, em média, durante 11 anos (variação de 4 a 27 anos) e registraram normalização dos testes laboratoriais para avaliação da colestase. Na comparação entre a primeira e a segunda biópsia realizadas com intervalo médio de 2,5 anos (variação de 0,3 a 9) observaram regressão da proliferação ductal, da inflamação portal e da fibrose nos casos em que a drenagem biliar foi efetiva. Um paciente com cirrose biliar secundária, diagnosticada à primeira biópsia, apresentava apenas discreta fibrose portal e periportal na reavaliação.

Como já foi assinalado, os modelos experimentais de colestase extra-hepática crônica, por meio de ligadura do ducto biliar têm fornecido muitas informações acerca das alterações estruturais e funcionais do fígado, embora existam dúvidas conceituais referentes à caracterização das lesões obtidas, bem como do efeito das modalidades de derivação biliar

empregadas, considerando suas potenciais seqüelas e influências sobre o processo de reparação do fígado.

Em ratos, os efeitos da ligadura convencional do ducto biliar sobre a morfologia hepática foram extensivamente examinados nestes últimos 75 anos, desde as observações iniciais de Cameron e Oakley (1932). Os autores notaram que, após ligadura dupla do canal biliar, por volta da 3^a semana, há dilatação sacular do ducto biliar e o fígado sofre uma desorganização estrutural com o aparecimento de nódulos de regeneração envoltos por bandas de ductos proliferados e fibrose discreta. Pode ocorrer restabelecimento do fluxo biliar e as alterações hepáticas regridem ou, mais frequentemente, ocorre perfuração do ducto biliar dilatado ou trombose venosa com infarto do fígado na segunda ou terceira semanas.

Cameron e Hassan (1958) observaram desorganização da arquitetura hepática e complicações com infecção, infarto extenso e trombose portal, após 5 a 7 semanas de ligadura biliar. Os valores séricos das bilirrubinas totais não foram muito elevados (4,8 mg% em média), sendo menores que os valores registrados com uma semana de obstrução (10,5mg%, em média); houve discreto aumento da fosfatase alcalina e não ocorreu alteração na relação da albumina com a globulina. Após 9 a 11 semanas de observação, havia sinais histológicos de infecção e cirrose com manutenção da elevação das bilirrubinas séricas e da fosfatase alcalina e inversão na relação albumina/globulina. Os autores acompanharam a evolução de 3 ratos que apresentaram icterícia, sobreviveram após a fase em que normalmente ocorre a cirrose biliar secundária, situada entre a quinta e sétima semanas e 2 deles foram submetidos à eutanásia no oitavo mês após a obstrução biliar. Apesar do alargamento nos espaços portais causados pela fibrose e proliferação ductal, o parênquima hepático apresentou arquitetura normal. O outro animal avaliado após um ano de ligadura biliar também apresentava arquitetura hepática normal. As avaliações funcional e bioquímica do fígado normalizaram-se e constatou-se restauração espontânea do fluxo biliar mediante reabsorção das ligaduras por reação do tipo corpo estranho.

Trams e Symeonidis (1957) demonstraram que após ligadura única do ducto biliar, o restabelecimento do fluxo biliar ocorre em poucas semanas. Com o objetivo de avaliar a recuperação hepática após a obstrução biliar, Cameron e Prasad (1960) utilizaram-se deste recurso e observaram que a oclusão ductal permanecia até 4 semanas, sendo, freqüentemente, seguida da restauração espontânea do fluxo biliar. Nas quatro semanas que se seguiam à obstrução biliar havia proliferação ductal, fibrose, estase biliar acentuada, infiltração dos espaços portais com linfócitos e monócitos e abscessos pequenos. Do 35^o ao 49^o dias após a ligadura biliar, havia combinação das alterações observadas com alargamento dos espaços

portais e aparecimento dos nódulos de regeneração hepatocelular. Todos os animais avaliados, após sete semanas, tinham o fluxo biliar restabelecido e o aspecto histológico do fígado normal.

Franco et al. (1979) induziram colestase extra-hepática em ratos por meio de ligadura dupla da via biliar com fio inabsorvível, visando registrar as alterações estruturais e bioquímicas do fígado e da pressão portal, com 2 e 4 semanas, bem como a evolução das anormalidades após 4 semanas do tratamento feito mediante DBD. No 14^o dia de colestase havia fibrose portal extensa, proliferação canalicular e infiltração dos espaços portais com células polimorfonucleares. Os níveis médios das bilirrubinas séricas estavam em 6,6 mg%, da fosfatase alcalina em 218 mU/ml, da pressão na veia porta em 11,3 mmHg e na veia hepática em 9,6 mmHg, enquanto no grupo controle esses valores foram respectivamente de 0,3mg%, 87mU/ml, 6,5 mmHg e 7,5mmHg. Após a DBD, observou-se regressão acentuada das lesões histológicas com discreta fibrose residual.

Outra investigação feita em ratos com 4 semanas de obstrução biliar tratados mediante DBJ demonstrou normalização da excreção biliar, regressão das alterações histológicas do fígado e redução dos níveis de pressão portal (ZIMMERMANN et al., 1992). Por outro lado, em modelo experimental semelhante, com avaliação realizada após 14 e 28 dias de observação da derivação biliar, registrou-se reversão da proliferação ductal, a qual não foi suficiente para normalizar a pressão portal (KRÄHENBÜHL; SHAFNER; KRÄHENBÜHL, 1998).

A hipertensão portal correlaciona-se com o grau de fibrose e de resistência vascular hepática (REICHEN et al., 1988). Após descompressão biliar, a reversão da hipertensão portal relaciona-se com a recuperação histológica do fígado (ZIMMERMANN et al., 1992). Entretanto, há demonstração de que as alterações morfológicas do fígado são quase completamente reversíveis 14 a 28 dias após derivação biliar, porém a hipertensão portal normaliza-se mais lentamente (ARONSON et al., 1993; ZIMMERMANN et al., 1992). A razão para o retarde na recuperação da hipertensão portal não está completamente esclarecida, mas pode ser decorrente da persistência da proliferação de células estreladas hepáticas (ZIMMERMANN; FELLAY; ZIMMERMANN, 1997).

Santos (1993), em nosso meio, observou que ratos com cirrose biliar secundária, 3 meses após DBD, apresentavam recuperação hepática de forma heterogênea, redução da fibrose, normalização do peso úmido do baço e regressão da colestase. Por outro lado, na maioria dos animais havia infiltrado misto nos espaços portais, elevação dos níveis de aminotransferases e restos alimentares ocupando as vias biliares e, às vezes, formando tricofitobezoar (FIGURA 2). Esses achados reforçam o conceito amplamente difundido de que

a DBD facilita o refluxo enterobiliar, mas se contrapõe à crença de que na vigência de anastomose bilioentérica ampla e pérvia, a via biliar esvazia-se livremente para o intestino e, raramente, ocorre colangite ascendente, como defende alguns autores (MADDEN et al., 1970).

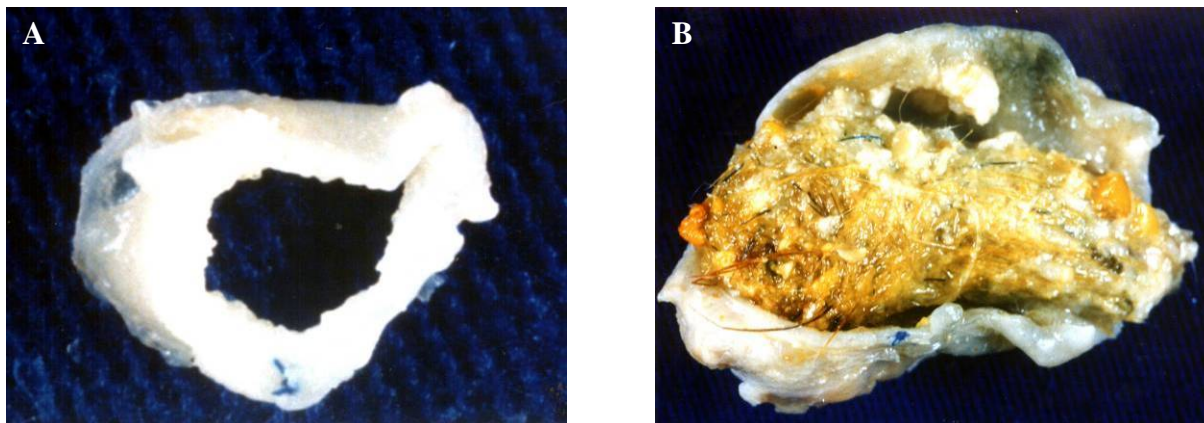


FIGURA 2 - Demonstração de anastomoses entre a via biliar e o duodeno de ratos com colestase extra-hepática crônica. Ambas são amplas, em (A) a anastomose está pérvia, enquanto em (B) está ocupada por corpo estranho semelhante a um cálculo de argila formado por restos de alimentos e pelos (trichofitobezoar). Fonte: Santos (1993).

Ainda, em nosso meio, um estudo do efeito das derivações bilioduodenal e biliojejunal com alça exclusiva de 5 cm, em ratos com 5 semanas de obstrução biliar demonstrou-se que as lesões hepáticas observadas são heterogêneas (FIGURA 3). Os tratamentos foram equivalentes no restabelecimento da função excretora e do metabolismo energético do fígado.. A recuperação da arquitetura hepática também foi heterogênea (FIGURA 3), e para essa variável, o desempenho da DBJ foi melhor mediante análise quantitativa pela regressão da proliferação ductal e da fibrose. Nesse estudo, foi observada a contaminação bacteriana da bile por germes gram negativos na maioria dos animais submetidos à derivação biliar e aparecimento do infiltrado inflamatório misto nos espaços portais (FIGURA 3), de forma mais intensa na DBD (SANTOS, 1997).

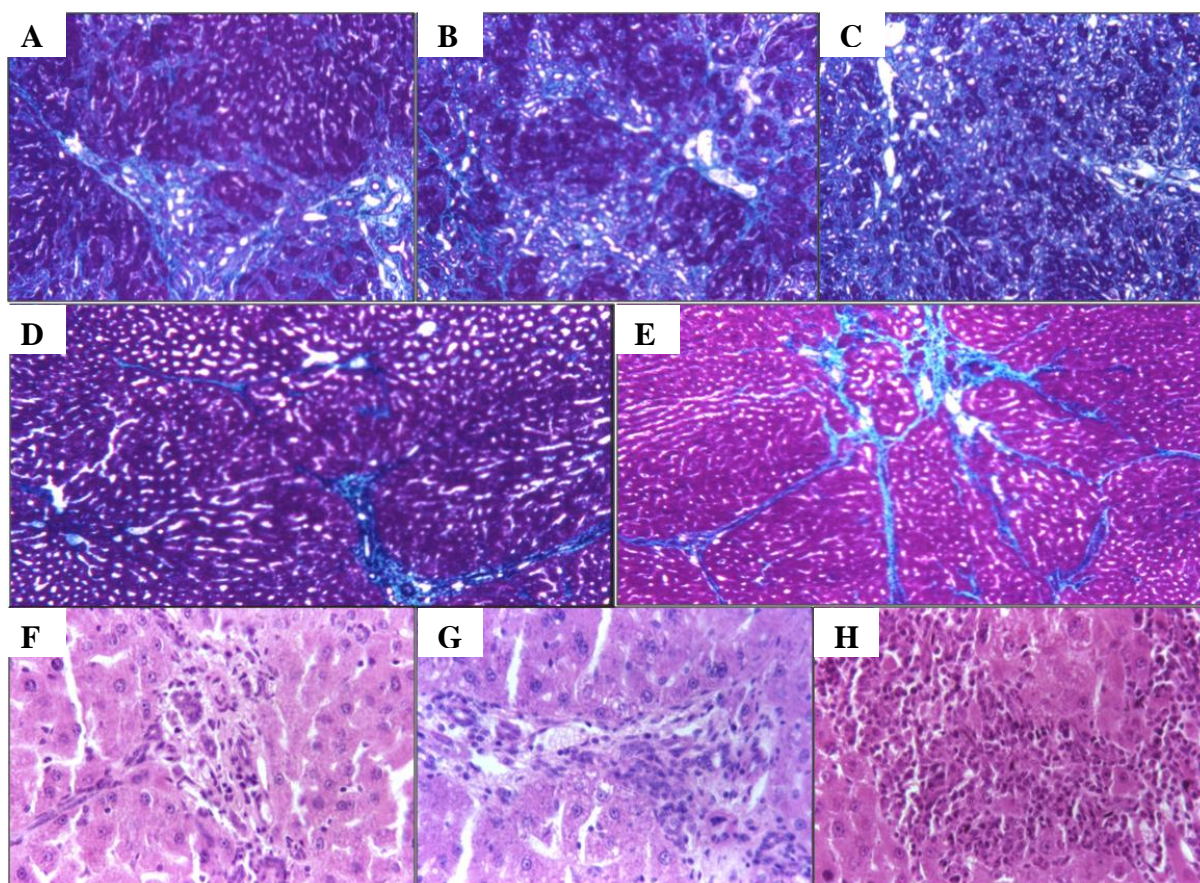


FIGURA 3 - Lesões hepáticas de ratos submetidos à ligadura com envolvimento da via biliar após 5 semanas de colestase. Num extremo, a proliferação ductal e a fibrose estão mais próximas aos espaços portais e há maior preservação do parênquima hepático com poucos nódulos parenquimatosos (A), numa situação intermediária, a septação do parênquima hepático atinge parcialmente os lóbulos hepáticos e há moderada quantidade de nódulos parenquimatosos (B), e no outro extremo a proliferação ductal e a fibrose são difusas e desarranja a estrutura lobular com separação dos hepatócitos em pequenas ilhas (C). Tricrômico de Masson, 100X. Em D e E, após derivação biliodigestiva, há recuperação da arquitetura hepática com septo fibroso residual fino (D) e com nódulo parenquimatoso residual (E) Tricrômico de Masson, 100X. Em F, G e H, após derivação biliodigestiva, aparece, no espaço portal, infiltrado inflamatório misto discreto (F), moderado (G) e grave (H). Hematoxilina e Eosina, 400X. Fonte: Santos (1997)

A DBJ tem como objetivo manter o conteúdo bilioentérico distante da via biliar, e em tese, evitar a ocorrência de colangite. No entanto, estudo experimental em porcos submetidos à obstrução biliar por 2 semanas e tratados mediante DBJ demonstrou que a contagem de colônias bacterianas no fígado foi 5 vezes maior do que na vigência da obstrução biliar, e as espécies de bactérias identificadas no fígado foram semelhantes àsquelas encontradas na hepaticojejunosomia (CHUANG et al., 2001).

Da mesma forma, Santos et al., em 1998, já tinham registrado a presença de inflamação discreta no fígado e baixa incidência de contaminação bacteriana da bile de animais com obstrução biliar em relação a animais submetidos à derivação bilioentérica,

sugerindo que a disseminação linfática e vascular de germes não seria suficiente para produzir colangite.

Assim, a especulação acerca da influência da extensão alça exclusiva em Y de Roux na intensidade do refluxo enterobiliar e no aparecimento da colangite ascendente foi motivo de estudo desenvolvido em nosso meio. Na comparação do efeito das derivações bilioduodenal e biliojejunal, essa com alça exclusiva de diferentes comprimentos (5, 10 e 15 cm), registrou-se normalização da fosfatase alcalina, das bilirrubinas e da aminotransferases em todas as modalidades de derivações empregadas, além da regressão significativa do peso do fígado. O peso úmido do baço regrediu de forma significativa somente nos animais tratados com DBJ. A normalização do consumo de O₂ ocorreu apenas nos animais com DBJ de 15 cm que corresponderia a uma alça de cerca de 40 cm no homem. Infiltrado inflamatório misto, refluxo enterobiliar e contaminação bacteriana da bile foram encontrados em todas as formas de tratamento (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001).

A despeito dos estudos em nosso meio demonstrarem o melhor desempenho da DBJ com alça exclusiva mais longa, para algumas das variáveis estudadas, os achados reforçam a importância de compreender os efeitos colaterais decorrentes das derivações biliares, bem como da necessidade de adoção de mecanismos e alternativas que possam minimizar o contato do conteúdo entérico com a via biliar (SANTOS et al., 2005; HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005).

A DBD em ratos com fibrose biliar secundária resolve a colestase, mas as alterações histológicas do fígado e a hipertensão portal não revertem (FRANCO et al., 1979). Em condição semelhante de lesão hepática, após DBJ, há registros de normalização da excreção hepática, com regressão das alterações histológicas do fígado e dos níveis de pressão portal (ZIMMERMAN et al., 1992) e da esplenomegalia (SANTOS, et al., 1998). Por outro lado, há indícios clínicos e experimentais de que as alterações da motilidade da alça exclusiva do Y de Roux convencional podem induzir à estase (DUTRA et al., 2007), ao crescimento bacteriano, à colangite e à fibrose hepática (DUCROTTE et al., 1991; HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005; KLAUS et al., 2001).

Ainda, há o conceito amplamente difundido de que os resultados terapêuticos do tratamento da obstrução biliar extra-hepática crônica dependem mais da doença de base e da patência da anastomose, do que da modalidade de derivação biliar empregada (MADDEN; GRUWEZ; TAN, 1965; NAGAI; YAMAKANA, 1992; VOGT; HERMAN, 1981). Esses conceitos, mais as facilidades técnicas têm, provavelmente, contribuído para a flexibilização

da indicação da DBD no tratamento da obstrução biliar, sobretudo na abordagem por videolaparoscopia.

Nesse cenário, pode-se afirmar que não há consenso sobre a modalidade de derivação biliodigestiva mais adequada para o tratamento da obstrução biliar extra-hepática. Os estudos experimentais comparando os resultados das duas modalidades de derivação biliar são restritos ao nosso meio e apresentam resultados conflitantes. A presença do refluxo enterobiliar na DBD e os distúrbios motores existentes na DBJ podem ocasionar estase, proliferação bacteriana, refluxo enterobiliar e colangite. Esses fenômenos justificam o estudo da influência das diferentes modalidades de derivação biliar sobre as alterações hepáticas decorrentes da obstrução biliar extra-hepática crônica, na perspectiva de identificar o tratamento que produz menos efeitos adversos, bem como de explorar ou avaliar novas modalidades de tratamento.

Isto posto, o objetivo deste trabalho é analisar, comparativamente, a influência da derivação biliar com o duodeno e com o jejuno no processo de reparação das lesões morfo-funcionais e metabólicas do fígado de ratos com obstrução biliar extra-hepática crônica.

2 . M A T E R I A L E M É T O D O

O trabalho foi desenvolvido nos seguintes Laboratórios da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) e do seu Hospital das Clínicas (HCFMRP-USP): Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Anatomia, Neuropatologia do Departamento de Patologia do HCFMRP-USP, Neurologia Aplicada e Experimental do Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia, Microbiologia da Unidade de Emergência do HCFMRP-USP e Inflamação e Dor do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP.

2.1 Animais de experimentação

Foram utilizados 166 ratos machos adultos de pelagem albina da linhagem Wistar, com variação de peso entre 240 e 300 gramas, provenientes do Biotério Central da FMRP-USP. Dos 158 animais que foram submetidos à obstrução biliar, apenas 26 serviram para o cumprimento de todas as etapas do experimento. A exclusão deu-se pelo não desenvolvimento dos sinais clínicos de obstrução biliar (icterícia, colúria, ascite e dilatação do ducto biliar, identificadas à inspeção e à palpação do abdômen) ou morte decorrente de complicações inerentes à obstrução biliar e ao pós-operatório da derivação biliar.

Os animais foram distribuídos em grupos de cinco e colocados em gaiolas de polipropileno com tampa de metal fenestrada e divisórias para ração e água. Os ratos foram mantidos com ração padrão e água *ad libitum* em sala com temperatura ambiente e iluminação natural.

2.2 Distribuição dos animais em grupos e subgrupos

Após um período de adaptação e obtenção do peso adequado, os animais foram alocados em 4 grupos:- Grupo OB (n=6), ratos submetidos à ligadura do ducto biliar durante 4 semanas; Grupos DBD (n=10) e DBJ (n=10), ratos submetidos à ligadura do ducto biliar durante 4 semanas e tratados, respectivamente, por meio das derivações bilioduodenal e biliojejunal em Roux-em-Y para avaliação após 12 semanas e, finalmente, um quarto grupo foi submetido à operação simulada (OS) (n=8), onde a laparotomia foi realizada no início do experimento e após 16 semanas (FIGURA 4).

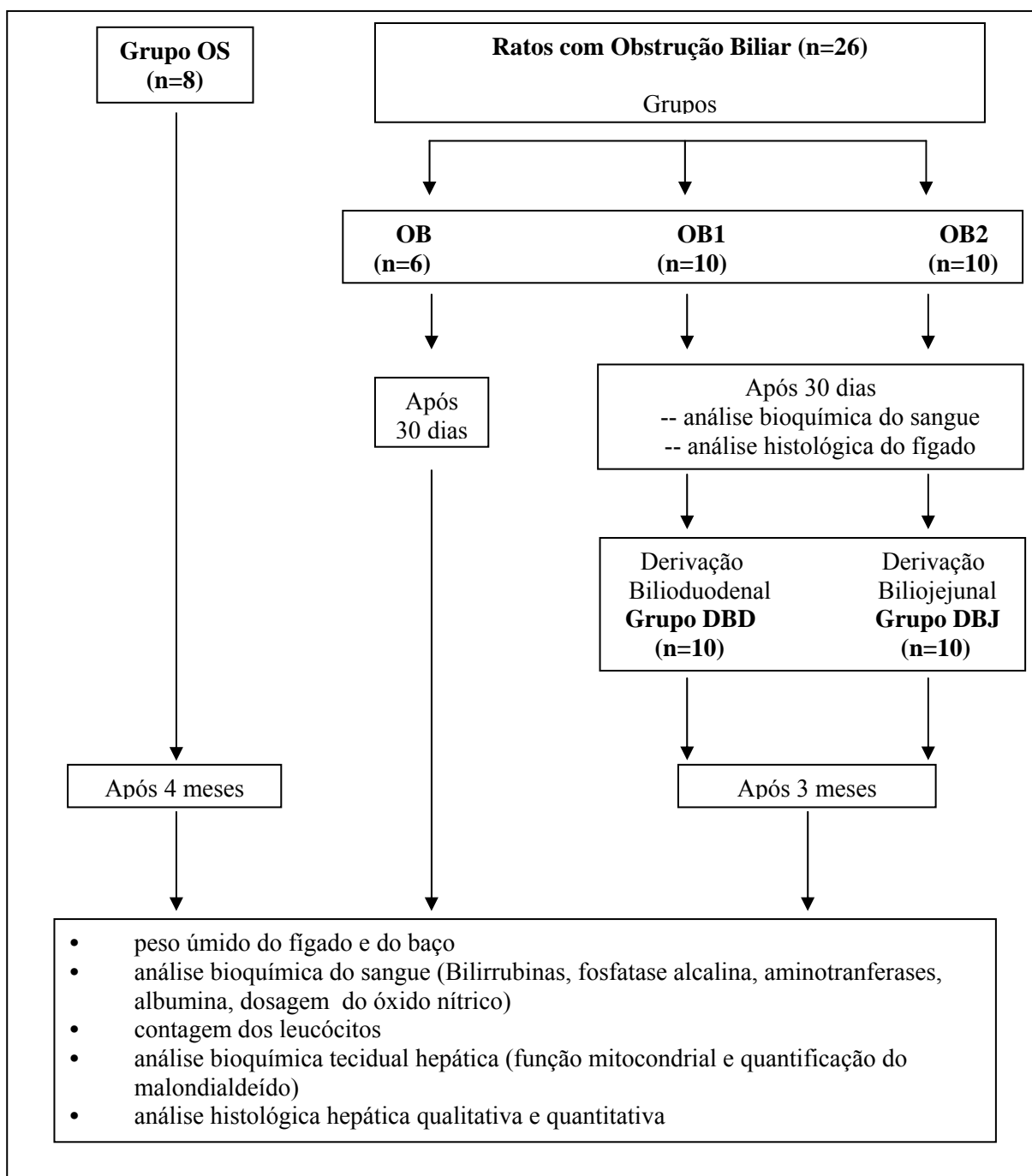


FIGURA 4 - Delineamento da pesquisa

2.3 Técnica operatória

Cada animal foi pesado, higienizado, anestesiado com pentobarbital (40-60 mg/Kg intraperitoneal) e posicionado em decúbito dorsal para tricotomia da parede anterior do abdome. A anti-sepsia foi feita com solução de polivinil pirrolidona iodo (Dermodine, J.P. Indústria Farmacêutica S.A. Ribeirão Preto). O acesso à cavidade abdominal foi obtido mediante laparotomia mediana no abdome superior e as bordas da incisão foram afastadas

lateralmente por afastadores delicados. A cavidade peritoneal foi mantida constantemente úmida mediante gotejamento esporádico de solução fisiológica para se evitar o ressecamento das vísceras.

No grupo (OS), os animais foram submetidos à operação simulada mediante tração do duodeno e identificação cuidadosa da via biliar para evitar traumas. Após 16 semanas os animais foram submetidos à laparotomia para coleta de bile, esplenectomia, coleta sangue da veia cava para contagem de leucócitos, análise bioquímica e dosagem do óxido nítrico. Finalmente, procedeu-se a remoção do fígado para as análises histológica e metabólica e, na sequência, à eutanásia dos animais.

No grupo (OB), após a identificação e exposição do ducto biliar procedeu-se a ligadura a aproximadamente 5 mm de sua bifurcação, com 5 nós de fio prolene 5-0 (prolene suture-blue monofilament Ethicon, Inc.), envolvendo-se o ducto biliar principal até 3 mm acima da junção biliopancreática, onde fez-se outra ligadura com 5 nós (CASTRO E SILVA JUNIOR. et al., 1995). Após 4 semanas, os animais foram submetidos à laparotomia para coleta de bile, esplenectomia, coleta sangue da veia cava para contagem de leucócitos, análise bioquímica e dosagem do óxido nítrico. Em seguida, procedeu-se a remoção do fígado para análises histológica e metabólica e, na sequência, à eutanásia dos animais.

Dos animais submetidos à obstrução biliar (OB1 e OB2) para derivação biliar, imediatamente antes do procedimento, foram coletados aproximadamente 2 ml de sangue para contagem de leucócitos, dosagem das bilirrubinas totais (BT) e frações, fosfatase alcalina (FA), alanina aspartato aminotransferase (ALT), alanino aminotransferase (AST) e albumina mediante punção de veia da cauda com “butterfly nº 26”. Na sequência, por meio desse acesso venoso, os animais receberam a infusão de aproximadamente 6 ml de solução glicofisiológica a 5% durante a operação. No grupo DBD, foi realizada a anastomose látero-lateral entre o ducto biliar dilatado aberto transversalmente e o duodeno aberto longitudinalmente na extensão de 1 cm. No grupo DBJ, realizou-se anastomose término-lateral entre a alça jejunal seccionada à cerca de 5 cm do ângulo duodenojejunal e o ducto biliar aberto transversalmente. A anastomose jejuno-jejunal foi realizada a 15 cm da hepaticojejunoanastomose. Todas as anastomoses foram feitas em plano único com pontos contínuos de fio Vicryl 5-0. Ainda, na mesma oportunidade, para os grupos DBD e DBJ procedeu-se à biópsia hepática no lobo inferior esquerdo para análise histológica e da proporção volumétrica dos seus componentes.

A síntese da parede abdominal foi realizada de modo idêntico em todos os animais; o peritônio, a aponeurose e a pele foram suturados em bloco com chuleio contínuo de nylon

monofilamentado 3.0. No pós-operatório, todos os animais foram mantidos em gaiolas isoladas por cerca de 24 horas e alimentados com ração padrão e água *ad libitum*.

No fim do experimento, após 12 semanas da derivação biliodigestiva, os animais dos grupos DBD e BBJ foram submetidos à laparotomia para coleta de bile, esplenectomia, coleta sangue da veia cava para hemograma, análise bioquímica e dosagem do óxido nítrico. Na seqüência, procedeu-se à inspeção da anastomose, à remoção do fígado para análise histológica e metabólica e, por fim, à eutanásia dos animais.

2.4 Análise do sangue

O sangue colhido foi depositado em tubo de ensaio sem anticoagulante e, após a retração do coágulo, o soro foi separado por centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos para avaliação bioquímica.

- Dosagens no soro

Bilirrubinas totais e frações: dosagem pelo método de Sims e Horn (1958); Kits analisa Diagnóstica (Analisa Diagnóstica Ltda., Belo Horizonte, MG).

Fosfatase Alcalina: dosagem pelo método de Roy (1970); Kits Analisa Diagnóstica (Analisa Diagnóstica Ltda., Belo Horizonte, MG).

Alanina aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST): dosagem pelo método de Henry (1960); Kits Analisa Diagnóstica (Analisa Diagnóstica Ltda., Belo Horizonte, MG).

Albumina: dosagem pelo método de Doumas, Watson e Biggs (1971) com Kits da Labtest (Labtest Sistemas Diagnósticos e Ltda, Belo Horizonte, MG).

Nitrato/nitrito: mediante coleta de 3 ml de sangue da veia cava inferior foi obtido soro pela centrifugação do sangue em 1800 rpm durante 10 minutos e depois armazenado em freezer-70° C. Para o ensaio, em placas de 96 poços foram encubados 40 µl das amostras e em seguida 40 µl da Solução contendo βNADPH (Sigma), enzima Nitrato reductase (Sigma) em Tampão KH₂PO₄ 0,5M por 12 horas em estufa de CO₂ a 37C. Uma curva padrão de nitrato de sódio (0,78 – 200 microM; Merck) também foi processada da mesma forma como realizada para as amostras. Após o período de incubação, foram adicionados 80 µl de reagente de Griess (contendo 2% de Sulfanilamida em H₃PO₄ 5%, mais 0,2% NEED em H₂O bidestilada) em cada poço da placa e incubados por 10 minutos em temperatura ambiente.

Por ser um ensaio colorimétrico a leitura da placa foi realizada em 540 nm (ELISA Plate Scanner; Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, CA – USA). Os resultados foram expressos em μM de NO_3/ml determinados pela comparação com uma curva padrão.

Contagem dos leucócitos: aproximadamente 0,5 ml de sangue coletado foi adicionado em tubo de ensaio contendo EDTA e depois de homogeneizado foi encaminhado para contagem dos leucócitos.

2.5 Análise da função mitocondrial

2.5.1 Isolamento das mitocôndrias hepáticas

Para estudo da função mitocondrial, parte do lobo hepático direito foi removida, colocada em um recipiente contendo solução fisiológica com temperatura de aproximadamente 4°C , fragmentado com tesoura reta e acondicionado em caixa de isopor com gelo picado. Os fragmentos hepáticos foram colocados em meio de homogeneização contendo sacarose 250 mM, EGTA 1 mM, e HEPES-KOH 10 mM, pH 7,2 e homogeneizados em Potter-Elvehjem em três ciclos de três segundos de duração, com intervalos de um minuto entre os ciclos. As mitocôndrias foram isoladas pela técnica de centrifugação diferencial (PEDERSEN et al., 1978). O homogeneizado obtido foi centrifugado a 770g por 5 minutos, com a finalidade de separar restos celulares, núcleos e células intactas. O sobrenadante resultante foi centrifugado a 9800g por 10 minutos. O sedimento resultante, contendo a fração mitocondrial, foi ressuspenso em 10 ml de meio contendo sacarose 250 mM, EGTA 0,3 mM e HEPES-KOH 10 mM, pH 7,2 e novamente centrifugado a 4500g por 15 minutos. O sedimento final foi ressuspenso em meio contendo sacarose 250 mM e HEPES-KOH 10 mM, pH 7,2. Todos os procedimentos foram realizados a uma temperatura de aproximadamente 4°C e dentro do período de duas horas.

2.5.2 Determinação da proteína mitocondrial

A proteína mitocondrial foi determinada pelo método de Biureto modificado pela adição de colato 1% (KAPLAN; PEDERSEN, 1983).

2.5.3 Estudo da respiração mitocondrial

As atividades oxidativa e fosforilativa mitocondrial foram determinadas polarograficamente, a 30°C , utilizando-se um oxígrafo fabricado pelo Instituto de Física de

São Carlos – USP, equipado com eletrodo de Clarck (CHANCE; WILLIAMS, 1956). Nos ensaios foram utilizados 2,6 mg de proteína mitocondrial, energizadas com succinato 5 mM/rotenona 4 μ M em meio de respiração contendo sacarose 250mM, KCl 65 mM, MgCl₂ 1mM, KH₂PO₄ 2 mM, EGTA 0,1 mM e Hepes-KOH 10mM, pH 7,4, volume final de 2,6 mL.

As velocidades de consumo de oxigênio mediante adição de 200nM de adenosina 5 difosfato (ADP) às mitocôndrias energizadas com succinato (estado III) e após a fosforilação de ADP (estado IV) foram expressas em nátomos de oxigênio/minuto/proteína mitocondrial. Da relação entre o estado III e o estado IV, obteve-se a razão do controle respiratório (RCR). A razão ADP/O foi obtida pelo quociente entre o ADP adicionado e o oxigênio consumido na fosforilação de todo o ADP adicionado.

A atividade fosforilativa mitocondrial foi calculada pela multiplicação do estado III da respiração pela razão ADP-O e expressa em milimoles de adenosina trifosfato sintetizados por minuto, por miligrama de proteína mitocondrial (nM de ATP/min./mg prot.).

2.5.4 Determinação do potencial de membrana mitocondrial

O potencial de membrana das mitocôndrias foi determinado espectrofluorimetricamente com safranina, em fluorímetro SLM Aminco, utilizando –se 495 e 586 nm para excitação e emissão, respectivamente. Nos ensaios foram utilizados 1 mg de proteína mitocondrial, energizadas com succinato 5mM/rotenona 4 μ M em meio contendo sacarose 200 mM, MgCl₂ 1mM, EGTA 0,03 mM, Hepes-KOH 20 mM, pH 7,4. Os resultados obtidos em unidade de fluorescência foram convertido em mV através de uma curva de calibração (VERCESI et al., 1991).

2.6 Quantificação do malondialdeído hepático

Após obtenção do fragmento hepático, o tecido foi lavado na solução Tris-HCL 20mM pH 7,2 em gelo e enxugado em papel absorvente. A seguir o fragmento hepático foi pesado, picotado e homogeneizado a 10% em Tris – HCl 20 mM, pH 7,2, utilizando-se homogeneizador do tipo Potter- Elvehjem em três ciclos com 1 minuto de intervalo entre os ciclos. Após adicionar 100 μ l de BTH 500mM, foi centrifugado a 3000 g por 10 minutos a 4^o C. Do sobrenadante obtido utilizou-se 200 μ l para o ensaio. Após, o preparo da amostra foi adicionado em um tubo especialmente lavado 650 μ l do reagente (CALBIOCHEM) e 150 μ L de HCl 12 N, agitado, incubado a 45^o C por 60 minutos e a seguir centrifugado a 3000 rpm

por 10 minutos. No sobrenadante obtido foi realizada a leitura de absorvância a 586 nm. Os valores foram expressos em μM , calculados a partir de uma curva padrão.

2.7 Análise microbiológica

As amostras de bile foram colhidas com assepsia cirúrgica, por meio de punção da via biliar com agulha hipodérmica 13x4 e acondicionadas em *ependorffs* contendo caldo de enriquecimento (BHI–Brain Heart Infusion). Após 24 horas de incubação em estufa microbiológica a 35 °C, foram semeados em meio sólido: ágar sangue (meio seletivo para isolamento primário), manitol (meio seletivo e diferencial para estafilococos) e Mac Conkey (meio seletivo e diferencial para Gram negativos). Decorridas mais 24 horas, as amostras que apresentaram crescimento bacteriano foram submetidas à identificação semi-automatizada (Sistema autoScan®-4 /Dade Micro Scan Inc.), que consiste em placas de microdiluição de plástico, impregnadas com a série bioquímica (cerca de 28-30 substratos) para a identificação bacteriana e antibióticos (cerca de 20 ou mais por painel) com suas respectivas diluições para a suscetibilidade antimicrobiana com concentração inibitória mínima. Uma suspensão padrão (escala 0,5 de Mac Farland) dos microorganismos em estudo foi inoculada nos poços da placa e após incubação a 35°C, de 15 a 24 horas, procedeu-se à leitura automática para detectar o crescimento bacteriano através de metodologia colorimétrica. As diferenças de pulsos eletrônicos foram analisadas automaticamente por um microcomputador que compara o padrão das reações com o programa interno para determinar a probabilidade das identificações.

2.8 Análise histológica do fígado

Os fragmentos de fígado foram fixados por imersão em líquido de Carnoy (60% de ácido acético glacial), por três horas e depois transferidos para uma solução de álcool a 70%. Cortes do parênquima hepático com 5- μm de espessura foram corados pela hematoxilina e eosina e pelo tricrômico de Masson.

Com intuito de evidenciar-se as células estreladas, foram realizadas reações imunohistoquímicas com anticorpo monoclonal anti-desmina (IgG, Dako, Carpinteria, CA; diluição 1:200) nos cortes subseqüentes, de acordo com as especificações do fabricante. Sucintamente, a recuperação antigênica foi realizada em tampão citrato a 10 mM, pH 6, sendo utilizada panela de pressão com tempo de fervura de 3 minutos.

O anticorpo monoclonal foi incubado por 2 horas à temperatura ambiente. Após lavagem com *Phosphate Buffered Saline* (PBS), os cortes foram incubados por 30 minutos com anticorpo secundário (anti-IgG de coelho, Dako, 1:100). Após lavagens com (PBS), os cortes foram incubados com o complexo Strepto-ABC[®] (Novocastra, UK) por 30 minutos à temperatura ambiente. A revelação foi realizada com solução cromógena de diaminobenzidina (Sigma Chemical Co[®], St. Louis MO) acrescida de 1,2 ml de água oxigenada a 3%. Os cortes foram lavados em água corrente, rapidamente contracorados com hematoxilina de Harris por 10 segundos, lavados em água corrente, desidratados em soluções crescentes de álcool e diafanizados com xilol. Para a montagem das lâminas foi utilizada resina *Permount*[®] (Fisher Scientific). Em todas as baterias de reações foram utilizados controles negativos (“*blank*”) e positivos (secções de músculo estriado).

A análise morfométrica dos cortes histológicos do fígado corados pelo tricrômico de Masson foi realizada por um único examinador que não conhecia o código de identificação das lâminas e o respectivo tratamento. A captura das imagens histológicas foi realizada por meio de microscópio óptico Axiophot[®] (Zeiss) acoplado a câmera digital (Sony). As imagens foram transferidas para um computador através de placa de captura de imagens *Frame Grabber*[®] (Zeiss). As imagens foram captadas no padrão RGB com 648x474 linhas para análise por meio do *software* gráfico KS400 V2.0[®], *Kontron Elektronik GmbH* (FAZAN; SALGADO; BARREIRA, 1997). Para a análise, foram identificadas três estruturas distintas: os hepatócitos representados por estruturas coradas em vermelho (não puro), a fibrose representada por estruturas coradas em azul (não puro) e os ductos biliares cuja coloração não permitia identificação automática pelo sistema. Desta forma, foi empregado o recurso denominado Limiar (“*threshold*”) que permite a análise do espectro dos três canais de cores RGB. Na primeira análise da imagem são marcadas as faixas nos três espectros que melhor representam o componente histológico em avaliação. Como nesse processo algumas outras estruturas podem ser ocasionalmente contabilizadas em virtude da falta de pureza da coloração, o examinador realizou um ajuste fino das faixas dos histogramas de cor, a fim de eliminar estas estruturas indesejáveis para a morfometria, como hemácias, por exemplo, já que as mesmas têm espectro de cor vermelha semelhante aos hepatócitos.

Terminada essa etapa iniciou-se um processo automático para obtenção das áreas dos componentes selecionados, que consistiu em:

- Calibração da imagem, por meio do conjunto objetiva x *optovar*, para conhecer a equivalência entre micrômetro e *pixel* (unidade básica de imagem) da imagem.
- Obtenção do valor da área mediante soma de pequenos polígonos, contabilizando uma área total da região selecionada.

Assim, tendo o valor da área total do quadro captado e a área da região selecionada, calculou-se a porcentagem dos componentes histológicos selecionados, presentes no fragmento analisado. Desta forma, o processo ocorre para cada quadro captado do fragmento analisado, finalizando com os dados de área de cada estrutura desejada.

Foi definido, por meio de um estudo piloto prévio, que a análise de 30 campos com aumento de 256 vezes representaria uma amostra significativa de cada lâmina. Assim, fez-se a captura sistemática por meio do *frammer* óptico de, em média, 200 campos de cada lâmina, com representação de mais de 50% da área total. Para cada animal, o programa de computador selecionou, aleatoriamente, 30 campos para a análise morfométrica.

A fração de volume, em porcentagem, foi obtida diretamente pela representação proporcional da área dos elementos histológicos do fígado: hepatócitos, fibrose, ductos biliares e outros elementos histológicos. Adotando-se a equivalência entre a fração de volume ocupada pelos diferentes componentes teciduais e a respectiva massa, obtiveram-se as frações absolutas estimadas de massa destes componentes, mediante produto da fração de volume pela massa total do fígado expressos em g/kg de peso corporal (ZIMMERMANN et al., 1992).

A análise morfométrica das células estreladas hepáticas foi realizada de forma semelhante, com o mesmo equipamento acima descrito. Assim, por meio do auxílio do *frammer* óptico, selecionou-se aleatoriamente 30 campos em cada lâmina com aumento de 400 vezes. A escolha das áreas para a contagem das CEH na zona metabólica hepática 1 (FIGURA 5) foi de forma interativa e independente, com auxílio do *software* KS 400[®]. Os resultados foram expressos mediante a soma do número de CEH em cada um dos 30 campos obtidos de cada lâmina.

..

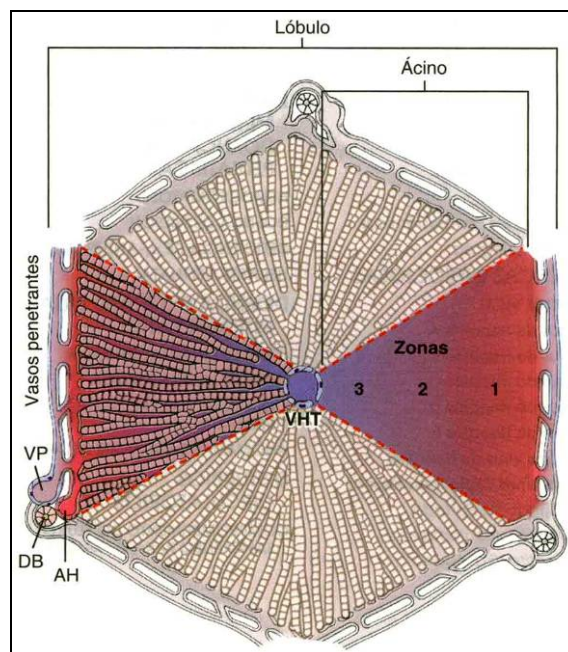


FIGURA 5 - Esquema da arquitetura hepática microscópica evidenciando as zonas metabólicas hepáticas: 1, 2 e 3. (VHT: vênula hepática terminal; AH: artéria hepática; DB: ducto biliar; VP: veia porta). Fonte: Cotran et al. (1999).

2.9 Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos em mediana e média nos gráficos; nas tabelas, a média foi acrescida do respectivo desvio padrão. Os gráficos do tipo “*box plot*” foram elaborados com o programa *Minitab versão 15*, incluindo valores discrepantes representados por asterisco. Os resultados foram analisados mediante aplicação dos modelos de efeitos mistos e ANOVA. O nível de significância adotado foi de 5%.

Os modelos lineares de efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos) são utilizados na análise de dados onde as respostas de um mesmo indivíduo estão agrupadas e a suposição de independência entre observações num mesmo grupo não é adequada (Schall, 1991). Esses modelos têm como pressuposto que seus resíduos tenham distribuição normal com média zero e variância σ^2 . Quando essa suposição não foi atendida, aplicou-se uma transformação cada variável resposta. Foi utilizado o procedimento PROC MIXED do *software SAS versão 9* (LITTELL et al., 1996, PAGANO; GAVREAU, 2004).

Para o modelo de ANOVA foram utilizadas transformações logarítmicas para atender os pressupostos residuais. Quando verificadas possíveis diferenças entre os grupos, o pós-teste de Tukey foi aplicado (MONTGOMERY, 2000, PAGANO; GAVREAU, 2004). Utilizou-se o procedimento PROC GLM do *software SAS 9.0* na análise (SAS INSTITUTE, 2002).

3 . R E S U L T A D O S

3.1 Evolução após indução da colestase e derivação biliar

Dentre os 158 animais submetidos à obstrução biliar, 107 (67,72%) desenvolveram sinais de colestase (icterícia, colúria e dilatação do ducto biliar visível ou palpável), 32 (20,25%) morreram e 19 não desenvolveram sinais de colestase (12,02%). Dos 107 animais, 6 foram utilizados para caracterização das variáveis estudadas na vigência da colestase; dentre os remanescentes 42 foram submetidos à DBD e 59 à DBJ, para a obtenção de 10 animais sobreviventes em cada grupo. Dessa forma, as taxas de mortalidade foram 76,19% para o grupo DBD e 83,05% para o grupo DBJ. A grande maioria dos óbitos pós-operatórios, 48 (59,2%) ocorreu nas primeiras 72 horas que sucederam as operações. Não houve mortes entre os ratos submetidos à operação simulada.

À macroscopia, o fígado apresentava consistência endurecida e coloração amarelada e o baço estava aumentado, como mostra a FIGURA 6.

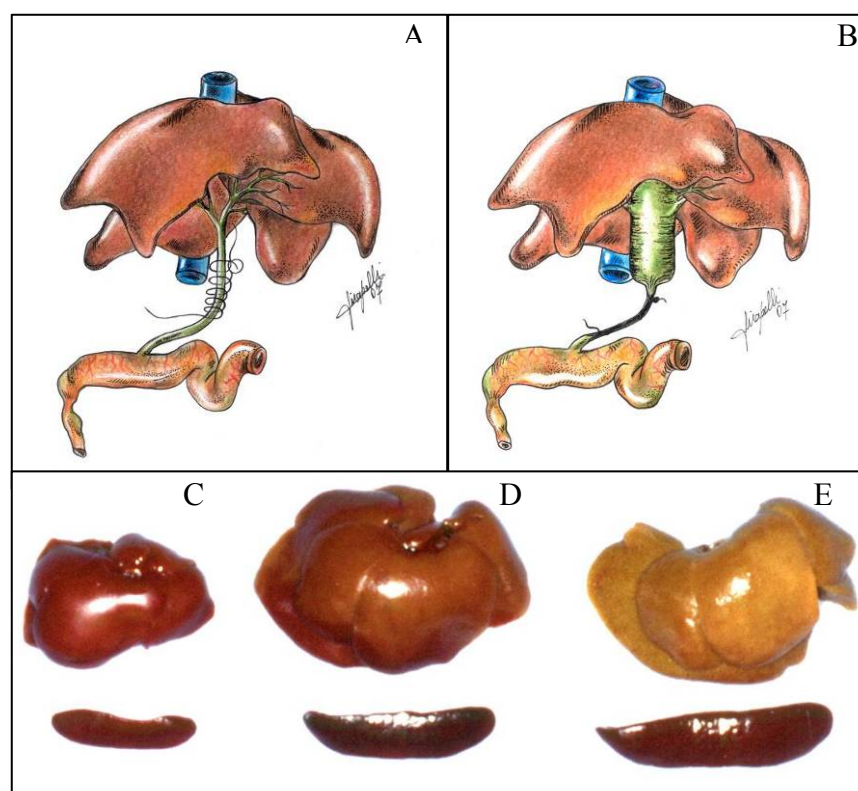


FIGURA 6 - Representação esquemática da técnica de obstrução biliar pela ligadura seguida de envolvimento do ducto biliar (A), com a zona de fibrose e dilatação ductal (B). Abaixo, da esquerda para a direita demonstra-se o conjunto formado por fígado e baço de rato submetido à operação simulada (C) e a duas semanas de obstrução biliar, onde há acentuada hepatoesplenomegalia (D). Após 4 semanas de obstrução biliar verifica-se discreta retração do fígado, mas o baço está aumentado, o que sugere progressão das lesões hepáticas (E).

O ducto biliar extra-hepático, em geral, apresentava paredes espessas e dilatação acentuada, o que facilitou a execução das anastomoses. O conteúdo do ducto biliar variava de fluido claro a amarelo citrino ou espesso amarelo com grumos (FIGURA 7).

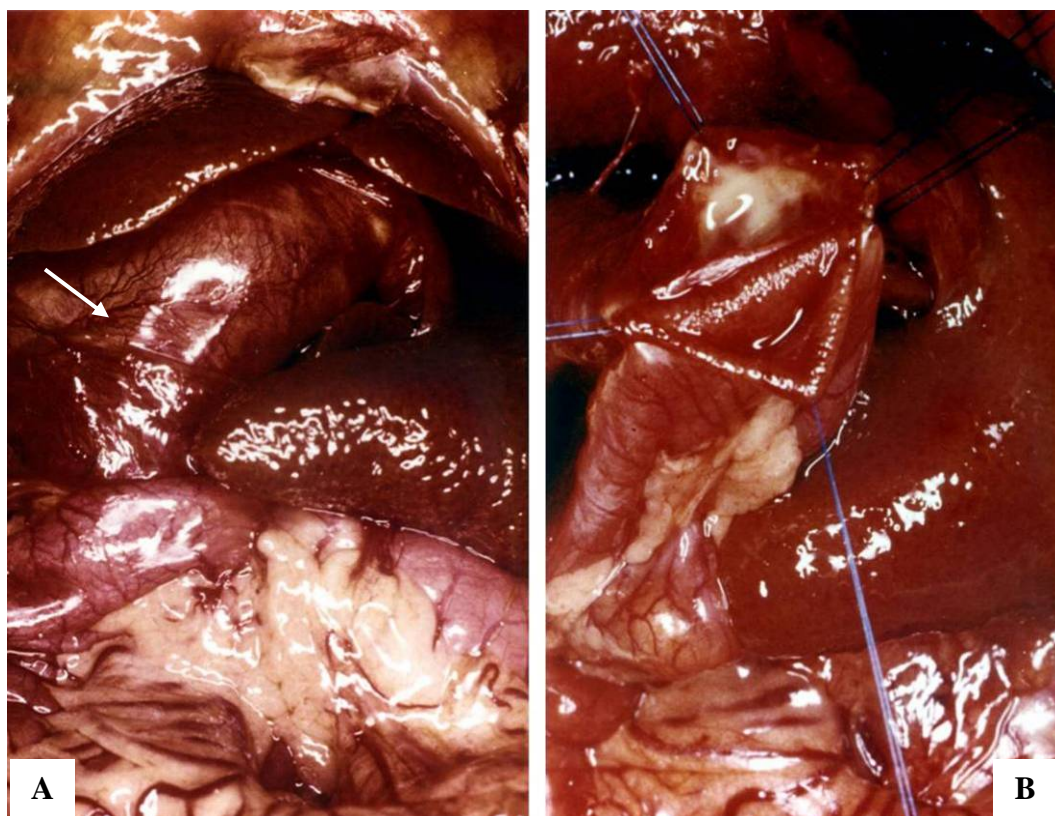


FIGURA 7 - Ducto hepático dilatado em rato com 4 semanas de obstrução biliar (seta) e fígado com superfície granulosa (A). Em (B) observa-se o duodeno e o ducto biliar com muco no seu interior, abertos e justapostos para a realização da anastomose.

As anastomoses bilioentéricas estavam amplas e p rveas, com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, em todos os animais. Todavia, nas duas modalidades de derivação biliar empregadas, foram observados restos alimentares e pelos ocupando as anastomoses, o ducto biliar e a alça aferente na DBJ. Em alguns animais havia organização desse material, formando estruturas modeladas pelo sítio de localização e muito semelhantes a cálculos com aparência de argila (FIGURA 8).

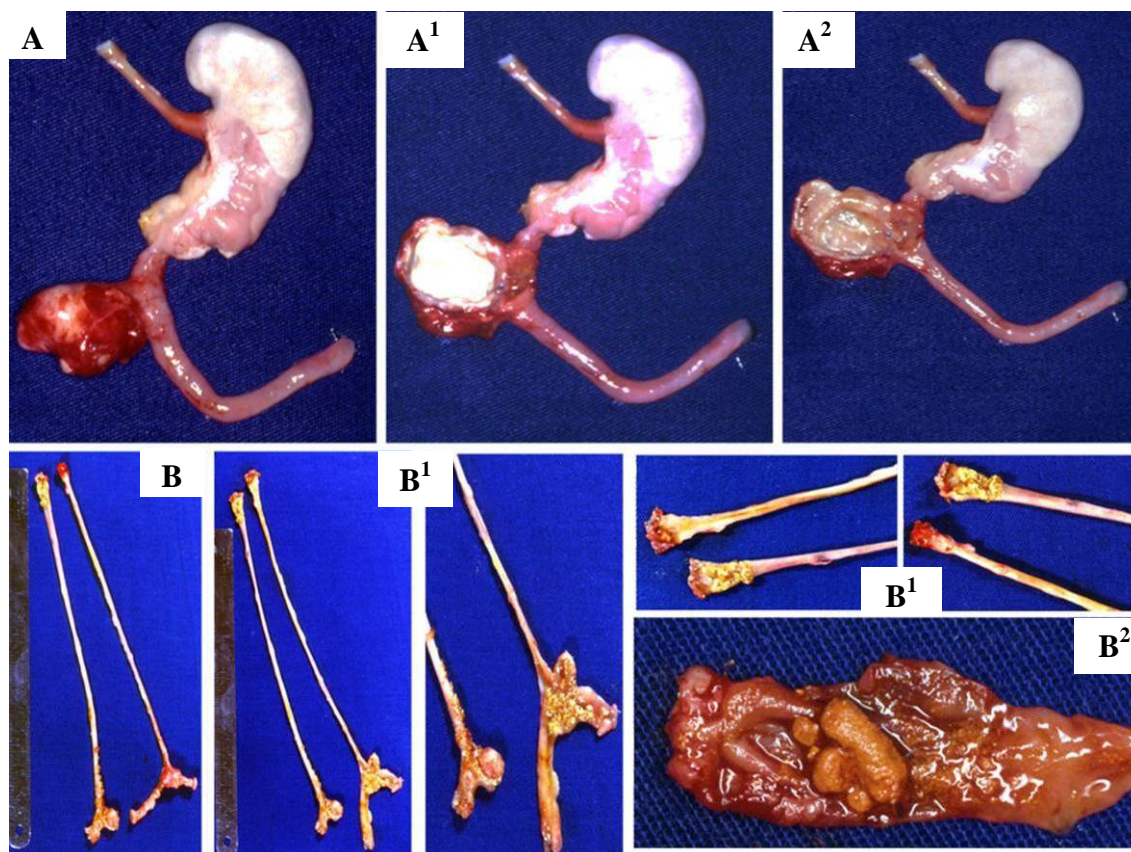


FIGURA 8 - Figuras A, A¹ e A² – Produto de necropsia de animal submetido à DBD com retirada em bloco do esôfago, estômago, duodeno e via biliar abaulada (A). A via biliar estava ocupada por massa organizada contendo pêlos e alimento, semelhante à cálculo com consistência de argila (A¹), apesar da anastomose estar ampla e pérvia (A²). **Figuras B, B¹ e B²** – Produto de necropsia de animal submetido à DBJ com alça excluída de 15 cm. Há abaulamento da anastomose biliojejunal e da confluência da anastomose jejuno-jejunal (B). Detalhe da confluência jejuno-jejunal com estase alimentar (B¹), bem como da anastomose biliojejunal com massa organizada contendo pelos e alimentos semelhantes ao cálculo com consistência de argila B².

3.2 Análise bioquímica do sangue

3.2.1 Dosagem das bilirrubinas totais e frações, das aminotransferases e da fosfatase alcalina

Os animais do grupo OB utilizados para o estudo de todas as variáveis na vigência da colestase extra-hepática crônica, e aqueles dos grupos OB1 e OB2 que foram submetidos às derivações bilioduodenal e biliojejunal, respectivamente, e passaram a ser denominados grupos DBD e DBJ apresentavam níveis semelhantes de colestase. Quando comparados com os animais do grupo OS, os animais dos grupos OB, OB1 e OB2 apresentavam elevação significativa das bilirrubinas totais e frações, das aminotransferases e da fosfatase alcalina. Após DBD e DBJ houve redução significativa dos valores das bilirrubinas totais e frações, da AST e da fosfatase alcalina em relação aos animais com obstrução biliar. A redução

significativa da ALT ocorreu apenas após a DBJ. A normalização de todos os marcadores ocorreu apenas após DBJ. Os valores da fosfatase alcalina e das bilirrubinas totais e indiretas após DBD foram significativamente maiores que aqueles registrados em OS. (TABELA 1) (FIGURAS 9 a 12). Os valores individuais dos diferentes marcadores da colestase estão nas tabelas 7 a 12 do apêndice A e a análise estatística nas tabelas 36 a 41 do apêndice B.

Tabela 1 – Efeito da obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e das derivações bilioduodenal (DBD) e biliojejunal (DBJ) sobre os valores das enzimas canaliculares, celulares e albumina, expressos em média ± desvio padrão.

	OS (n=8)	OB (n=6)	OB1 (n=10)	DBD (n=10)	OB2 (n=10)	DBJ (n=10)	
BT	0,28 ± 0,09	8,45 ± 1,01	9,35 ± 1,40	0,40 ± 0,10	9,58 ± 2,34	0,32 ± 0,09	* 1
BD	0,09 ± 0,05	6,32 ± 0,62	6,07 ± 1,08	0,08 ± 0,05	6,63 ± 1,62	0,08 ± 0,02	* 2
BI	0,023 ± 0,21	2,05 ± 0,48	3,28 ± 1,22	0,33 ± 0,07	2,95 ± 1,13	0,24 ± 0,07	* 1
ALT	95,25 ± 34,67	234,83 ± 103,87	209,70 ± 55,27	195,60 ± 259,96	188,90 ± 74,01	101,70 ± 31,87	* 3
AST	194,13 ± 70,77	493,58 ± 131,12	473,00 ± 110,32	326,60 ± 291,94	455,20 ± 215,81	194,40 ± 50,49	* 2
FA	80,88 ± 21,07	369,83 ± 86,31	450,70 ± 66,47	154,10 ± 51,81	415,60 ± 110,92	84,80 ± 23,37	* 4
ALB	2,41 ± 0,13	1,87 ± 0,27	2,29 ± 0,37	1,90 ± 0,50	2,29 ± 0,27	2,28 ± 0,13	* 5

BT (Bilirrubina total); BD (Bilirrubina direta); BI (Bilirrubina indireta); ALT (Alamina aminotransferase); AST (Aspartato aminotransferase); FA (Fosfatase alcalina); ALB (Albumina).

*1 - comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs DBD.

*2 - comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ.

*3 - comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2) e OB2 vs DBJ.

*2 - comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2), OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ.

*4 - comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2) OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

*5 - comparações múltiplas significativas: OS vs OB; OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

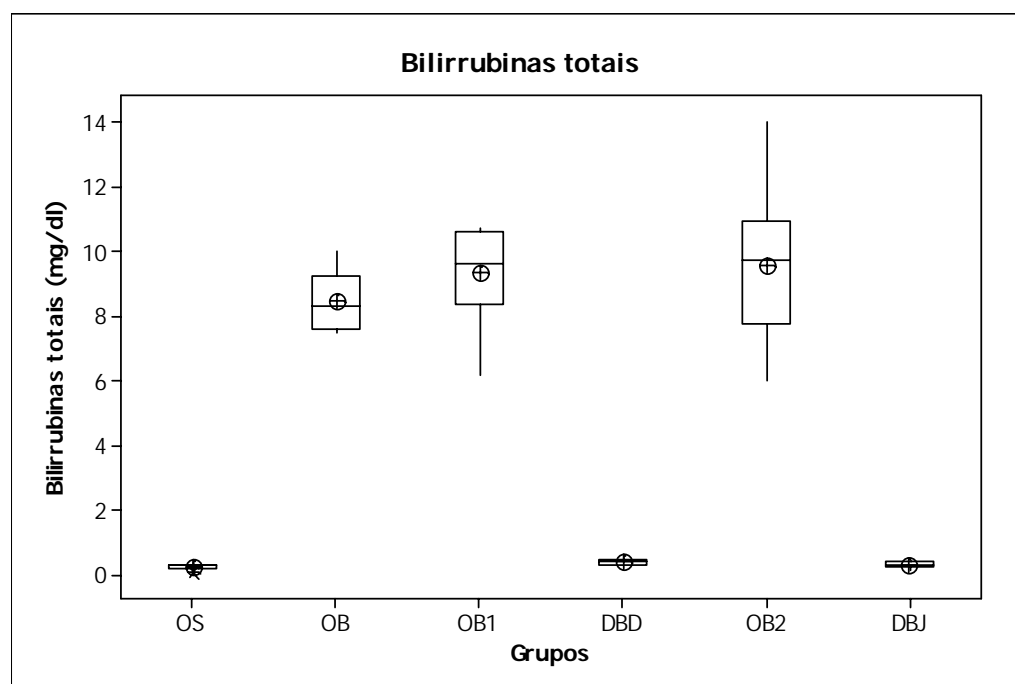


FIGURA 9 - Representação dos valores séricos das bilirrubinas totais dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ) respectivamente. ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs DBD.

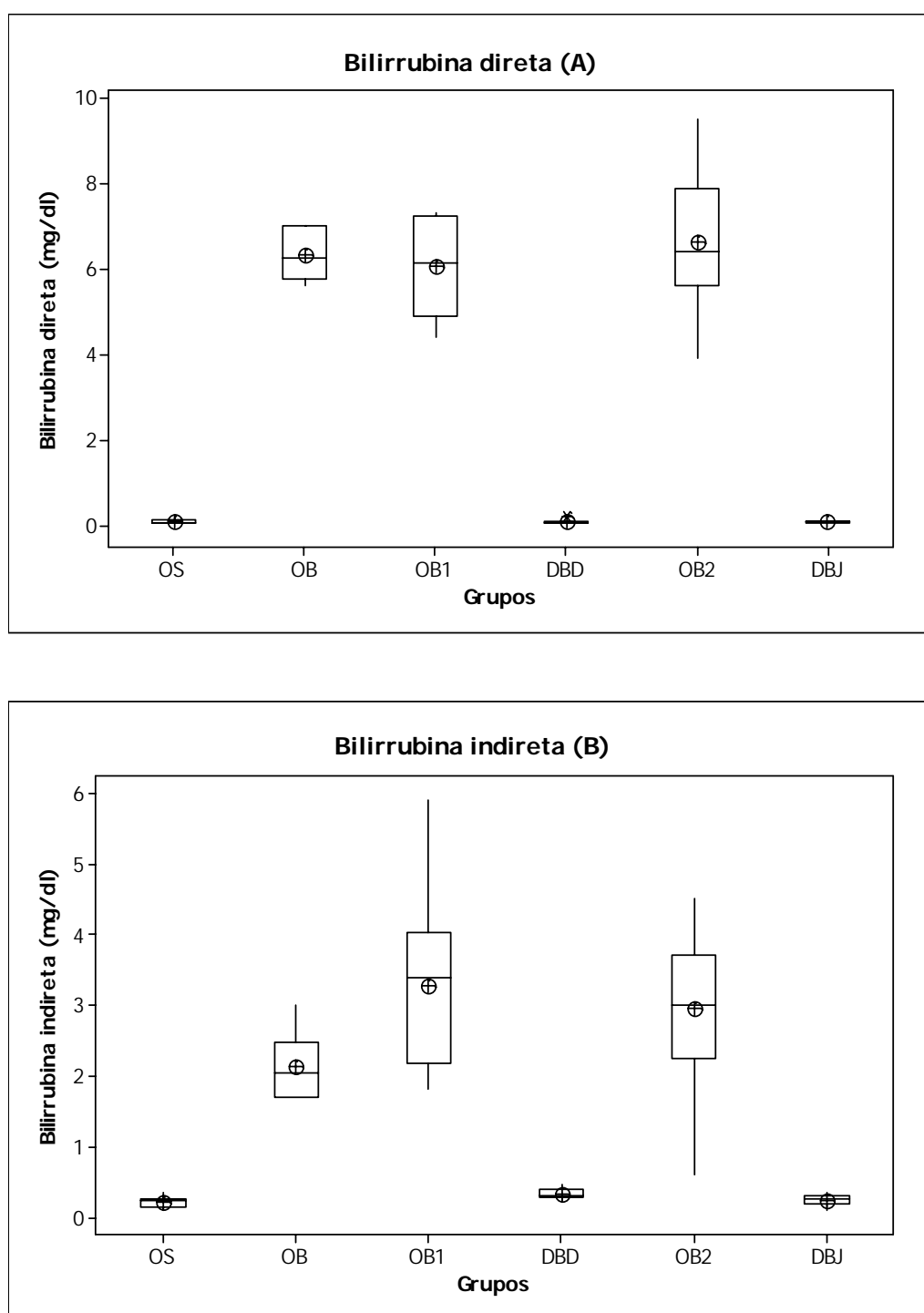


FIGURA 10 - Representação dos valores séricos das bilirrubinas direta (A) e indireta (B) dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas para BD entre os grupos: OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e para BI entre os grupos: OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs DBD.

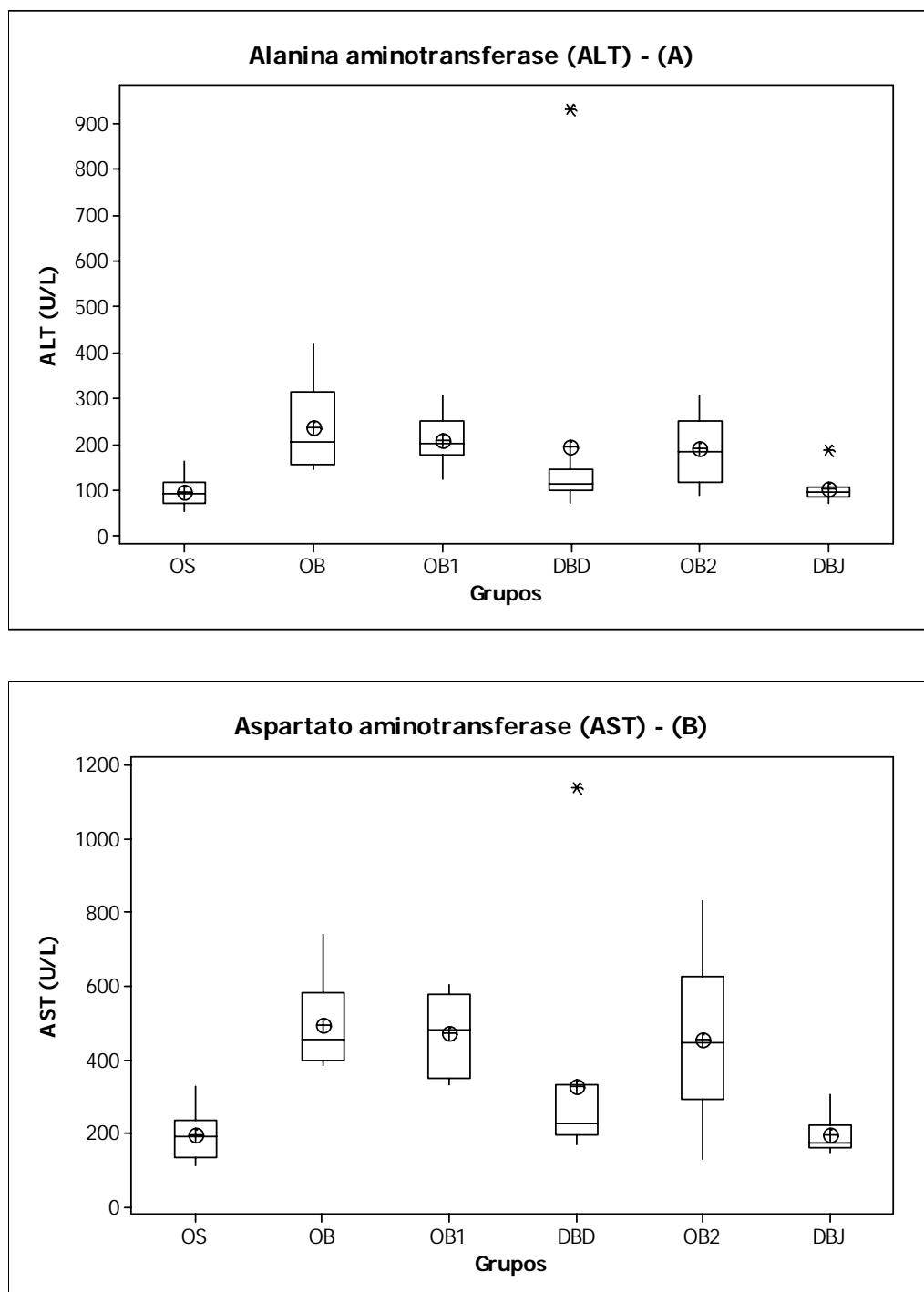


FIGURA 11 - Representação dos valores séricos da alanina aminotransferase (ALT) (A) e aspartato aminotransferase (AST) (B) dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os grupos para **ALT**: OS vs (OB, OB1, OB2) e OB2 vs DBJ e **AST**: OS vs (OB, OB1, OB2), OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ.

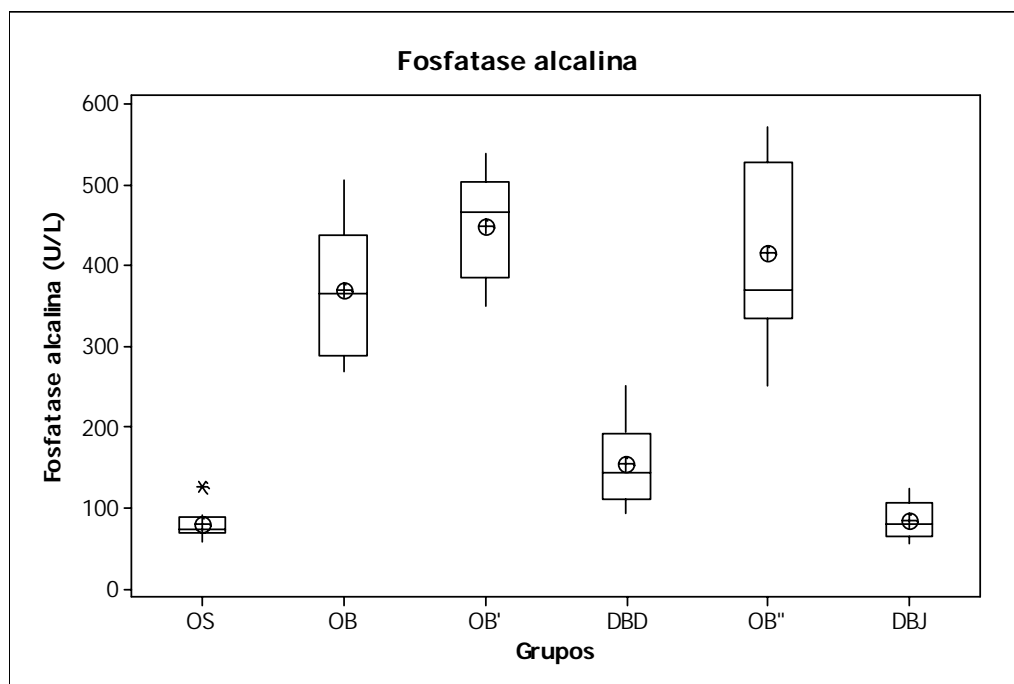


FIGURA 12 - Representação dos valores séricos da fosfatase alcalina dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre OS vs (OB, OB1, OB2) OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

3.2.2 Dosagem da albumina

Na comparação do grupo OB com o grupo OS houve redução significativa da albumina sérica. Todavia, os animais dos grupos OB1 e OB2 submetidos à DBD e DBJ não apresentavam hipoalbuminemia. A DBD induziu à redução significativa da albumina, enquanto a DBJ não afetou os seus valores que se mativeram equivalentes àqueles observados no grupo OS. (TABELA 1) (FIGURA 13). Os valores individuais da albumina sérica estão na tabela 13 do apêndice A e a análise estatística na tabela 42 do apêndice B.

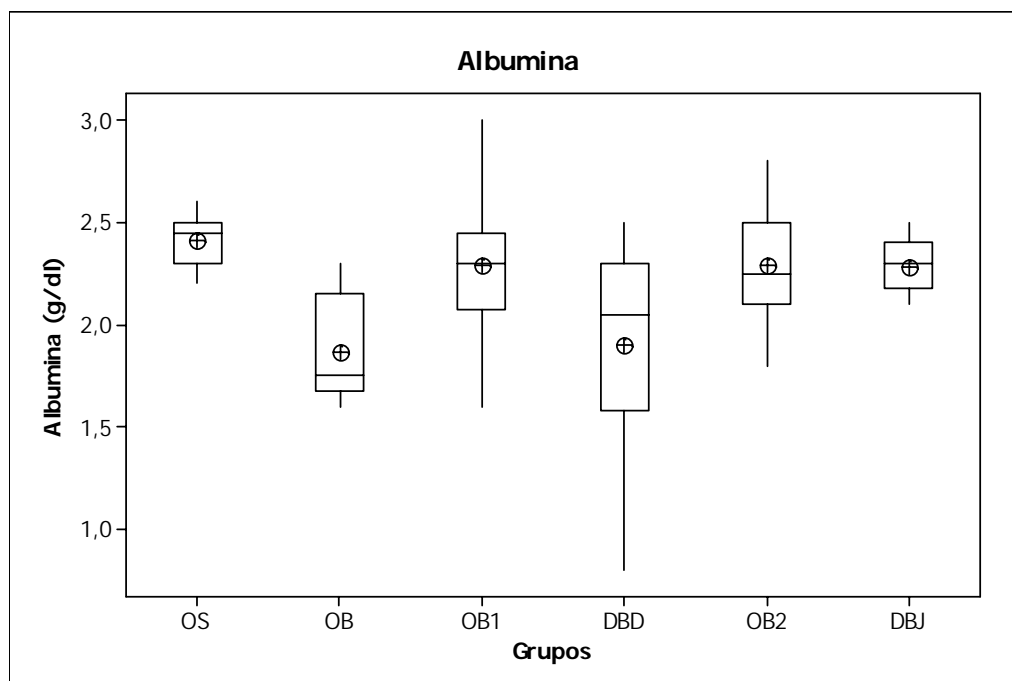


FIGURA 13 - Representação dos valores séricos da albumina dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 submetidos à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

3.2.3 Dosagem do óxido nítrico

Os valores mediano e médio com o seu respectivo desvio padrão de nitrato/nitrito, obtidos para o grupo OS, foram respectivamente de 11,24 e $(12,55 \pm 3,17\mu\text{M})$, maiores que aqueles registrados no grupo OB, respectivamente de 8,46 e $(9,57 \pm 2,20\mu\text{M})$, sem diferenças significativas. Após as derivações bileodigestivas houve aumento em comparação ao grupo OB, atingindo valores mediano e médio com o seu respectivo desvio padrão de 11,62 e $(14,78 \pm 9,87\mu\text{M})$ para DBD e 9,23 e $(9,83 \pm 1,93\mu\text{M})$ para DBJ, sem diferenças significativas em relação aos grupos OB e OS (FIGURA 14). Os valores individuais do óxido nítrico sérico para os animais dos diferentes grupos estudados estão na tabela 14 do apêndice A e a análise estatística na tabela 43 do apêndice B.

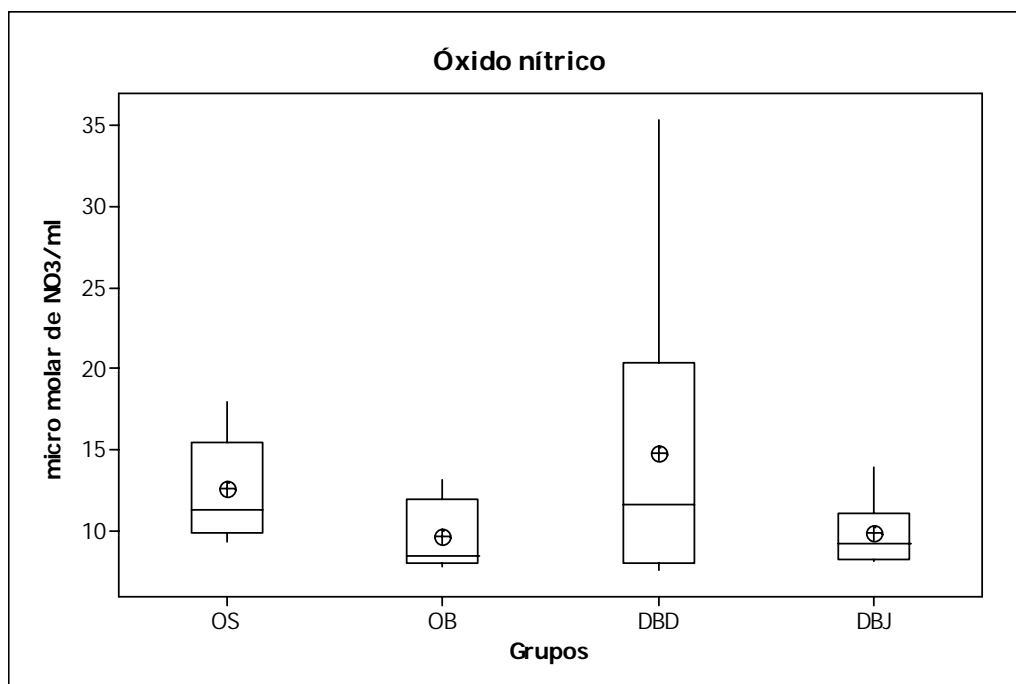


FIGURA 14 - Valores séricos do óxido nítrico em μM de NO_3/ml dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

3.3 Contagem dos leucócitos no sangue

Quando comparados com os animais do grupo OS, os animais dos grupos OB, OB1 e OB2 apresentavam elevação significativa dos valores de leucócitos. Os animais do grupo OB, OB1 e OB2 apresentavam valores equivalentes para a leucocitose.

Após DBD e DBJ houve redução significativa da leucocitose em relação aos animais OB1 e OB2, respectivamente, mas os valores permaneceram significativamente mais elevados em relação ao grupo OS. (FIGURAS 15). Os valores individuais dos leucócitos estão nas tabelas 15 do apêndice A e a análise estatística na tabela 44 do apêndice B.

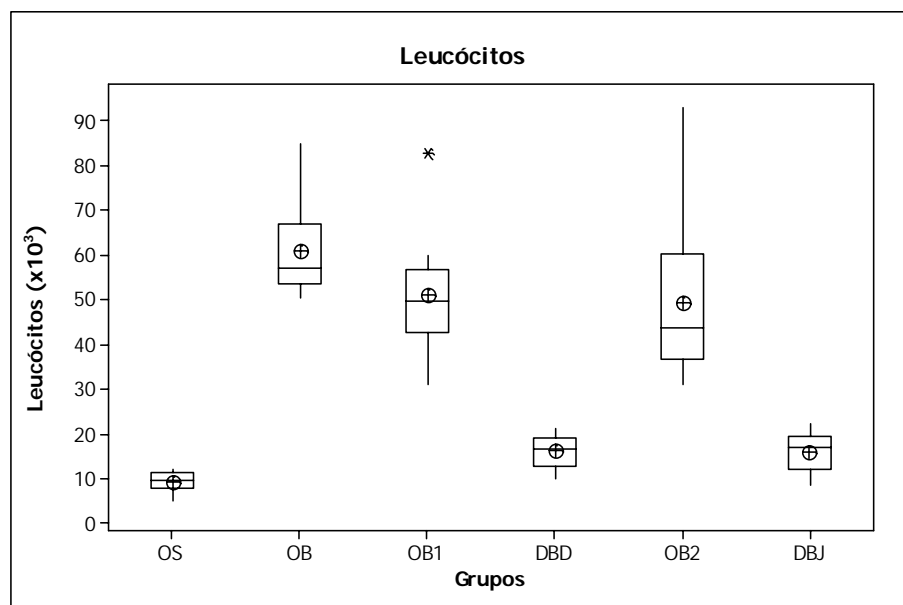


FIGURA 15 - Representação dos valores séricos dos leucócitos dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB1e OB2) e dos animais OB1 e OB2 submetidos à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1 e OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs (DBD e DBJ).

3.4 Análise microbiológica da bile

Nas amostras de bile dos animais do grupo OS e OB não ocorreu crescimento bacteriano. Por outro lado, dentre os 20 animais submetidos à DBD e DBJ, 16 apresentaram crescimento de germes na bile, onde 10 pertenciam ao grupo DBD. A *Escherichia coli* foi o germe mais isolado e esteve presente em 10 animais. (FIGURA 16). A relação dos germes isolados para cada animal está na tabela 16 do apêndice A.

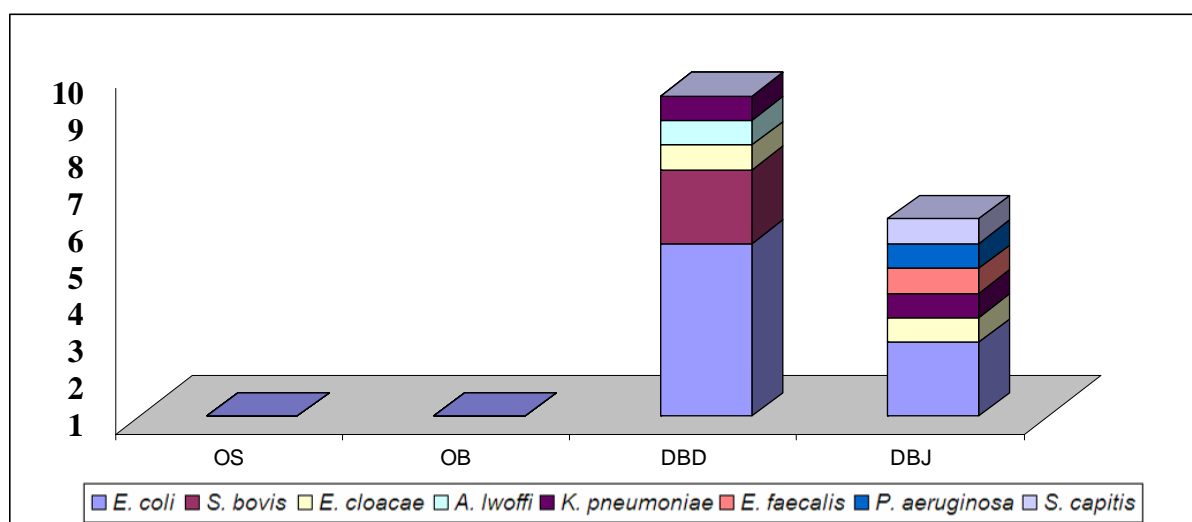


FIGURA 16 - Incidência de contaminação da via biliar e frequência dos germes encontrados nos animais dos grupos OS, OB, DBD e DBJ.

3.5 Análise histológica do fígado

3.5.1 Análise microscópica qualitativa

Em todos os animais submetidos à obstrução biliar houve proliferação intensa de ductos biliares e fibrose. As alterações foram mais acentuadas nos espaços portais, mas havia irradiação com intensidade variável para o interior do lóbulo hepático, em direção à veia centro lobular. Esse processo produziu a septação do parênquima hepático com formação de ilhas de hepatócitos, denominados nódulos parenquimatosos, os quais foram freqüentes e de tamanhos variados. Entremeando a fibrose e os ductos biliares, havia infiltrado inflamatório linfomononuclear com neutrófilos e plasmócitos de intensidade leve, nas zonas 2 e 3, a moderada, na zona 1 do lóbulo hepático.

Após as derivações biliodigestivas houve recuperação da arquitetura hepática com redução da proliferação ductal e dos nódulos parenquimatosos. A redução da fibrose foi mais discreta com persistência de septos nos espaços portais (FIGURA 17). Observou-se, ainda, infiltrado inflamatório linfomononuclear com neutrófilos e plasmócitos de intensidade leve, nas zonas 2 e 3, a moderada/intensa na zona 1 do lóbulo hepático. A relação da natureza e da intensidade das alterações inflamatórias para cada animal está na tabela 17 do apêndice A.

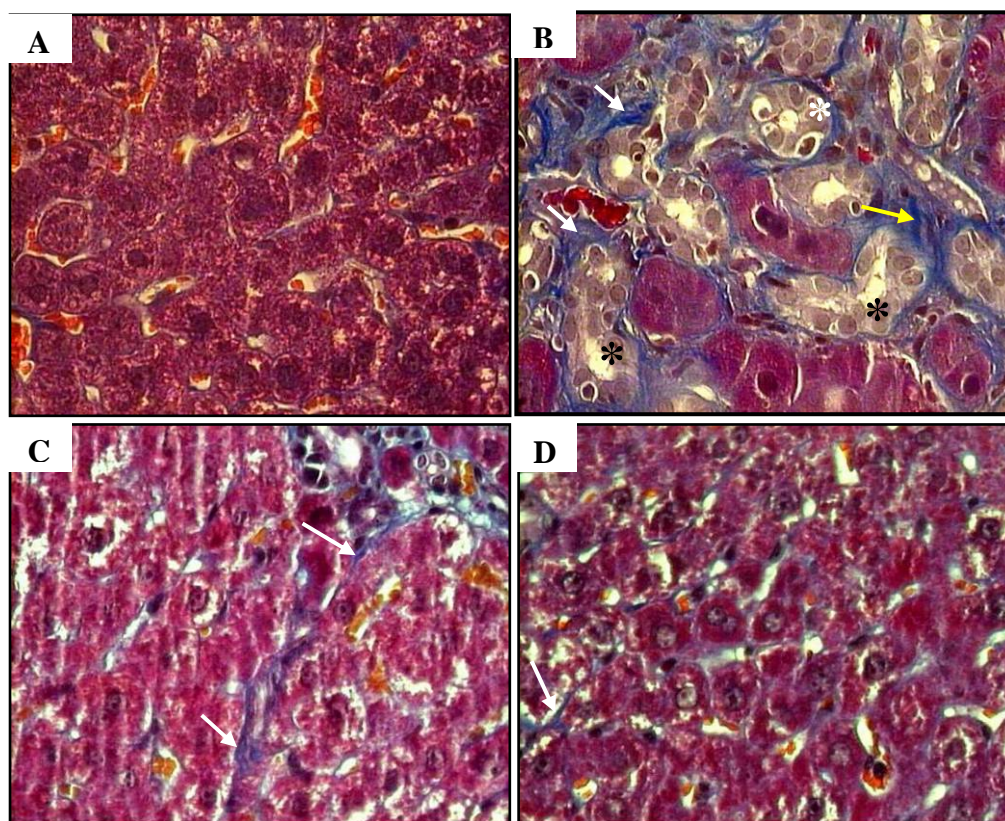


FIGURA 17 - Fotomicrografias obtidas a partir dos cortes histológicos do fígado de animais dos grupos OS, OB, DBD e DBJ. Em (A) Grupo OS com fígado normal em (B) Grupo OB com fibrose biliar secundária após ligadura do ducto biliar por 30 dias (* = ductos biliares; setas = fibrose, em (C) Grupo DBD 3 meses após DBD com recuperação da arquitetura hepática e fibrose residual e em (D) Grupo DBJ 3 meses após DBJ com recuperação da arquitetura hepática e fibrose residual (seta = fibrose). Tricrômico de Masson, 256X.

O número de células estreladas hepáticas marcadas pela desmina, aparentemente, não se alterou no grupo OB em relação ao grupo OS. Após a derivação biliar houve incremento no número de células estreladas que, aparentemente, foi mais acentuado após DBD (FIGURA 18).

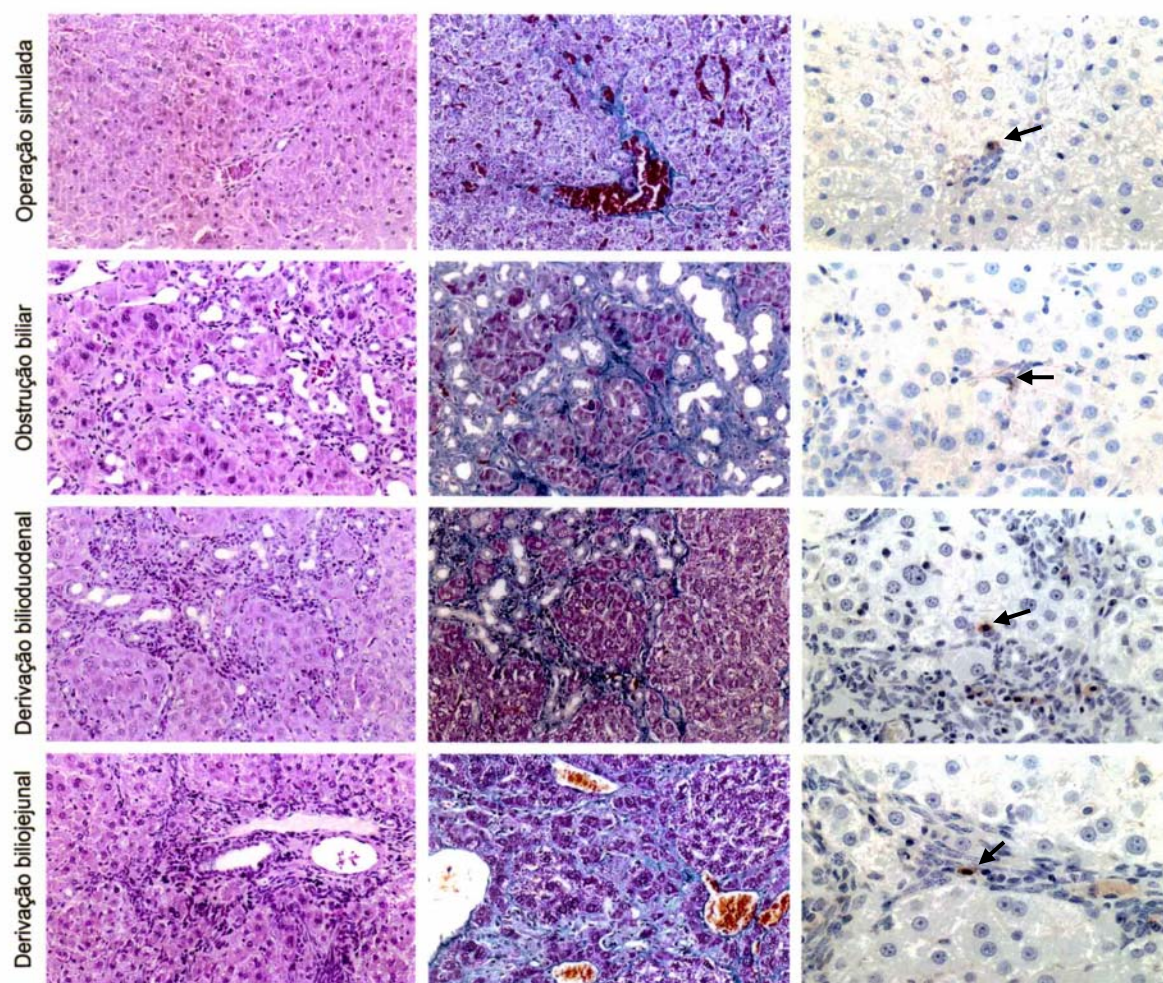


FIGURA 18 – Prancha obtida a partir dos cortes histológicos do fígado de animais dos grupos OS, OB, DBD e DBJ corados da esquerda para a direita com H&E, Tricrômico de Masson e imunohistoquímica 200X. As setas indicam as células estreladas hepáticas marcadas pelo anticorpo anti-desmina, com aumento mais expressivo no grupo DBD.

3.5.2 Análise microscópica quantitativa da fração de volume dos componentes histológicos do fígado

Os animais dos grupos OB, OB1 e OB2, quando comparados com os animais do grupo OS, apresentavam redução significativa da fração volumétrica de hepatócitos, acompanhada de aumento da fração de fibrose, dos ductos biliares e dos outros elementos histológicos do fígado.

Os animais com obstrução biliar (grupo OB) utilizados para o estudo de caracterização da colestase extra-hepática crônica e aqueles dos grupos OB1 e OB2 que foram submetidos às derivações bilioduodenal e biliojejunal, respectivamente, e passaram a ser denominados grupos DBD e DBJ apresentavam alterações morfométricas hepáticas semelhantes apenas para a fração de volume de ductos biliares e fibrose.

Após DBD e DBJ houve aumento significativo da fração de volume proporcional de hepatócitos com redução também significativa dos volumes proporcionais de fibrose e de outros componentes histológicos. A redução significativa da fração de volume de ductos biliares ocorreu apenas após DBJ. Por outro lado, apenas a proporção de volume de hepatócitos e dos outros elementos histológicos normalizou-se após DBD e DBJ. As proporções volumétricas de ductos biliares e fibrose permaneceram elevadas após DBD e DBJ em relação ao grupo OS. (TABELA 2) (FIGURAS 19, 20, 21 e 22). A proporção de volume dos diferentes componentes histológicos (hepatócitos, ductos biliares, fibrose e outros elementos histológicos) para cada animal dos diferentes grupos está, respectivamente, nas tabelas 18, 19, 20 e 21 do apêndice A e a análise estatística nas tabelas 45, 46, 47 e 48 do apêndice B.

Tabela 2 – Efeito da obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e das derivações bilioduodenal (DBD) e biliojejunal (DBJ) sobre a fração de volume (%) dos elementos histológicos do fígado (média ± desvio padrão).

	OS (n=8)	OB (n=6)	OB1 (n=10)	DBD (n=10)	OB2(n=10)	DBJ (n=10)	
Hepatócitos	67,20 ± 4,72	37,86 ± 8,14	28,56 ± 6,33	59,33 ± 6,23	30,72 ± 7,06	63,64 ± 4,12	* 1
Ductos	0,05 ± 0,04	10,46 ± 3,64	7,66 ± 2,19	1,95 ± 1,28	8,23 ± 1,90	1,13 ± 0,88	* 2
Fibrose	0,19 ± 0,12	11,24 ± 4,84	9,15 ± 2,88	3,82 ± 1,69	10,16 ± 3,53	2,35 ± 0,84	* 3
Outros	31,41 ± 4,79	38,56 ± 4,43	54,63 ± 8,12	34,90 ± 4,84	50,90 ± 8,12	33,16 ± 4,53	* 1

* 1 comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2); OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD e OB2 vs DBJ.

* 2 comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2); OB2 vs DBJ; OS vs (DBD e DBJ).

* 3 comparações múltiplas significativas: OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ) e OS vs (DBD e DBJ).

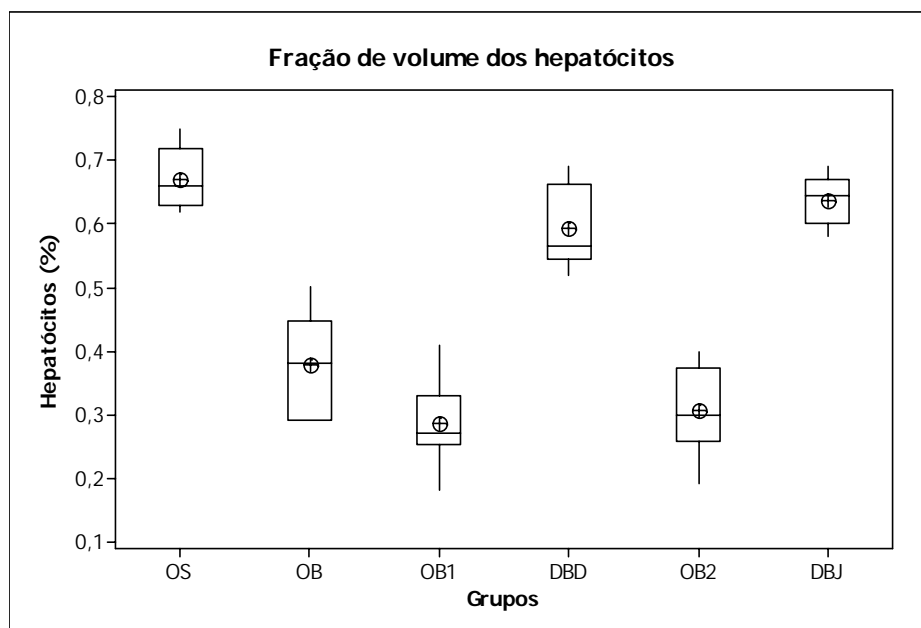


FIGURA 19 - Representação dos valores percentuais da fração de volume dos hepatócitos dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD e OB2 vs DBJ.

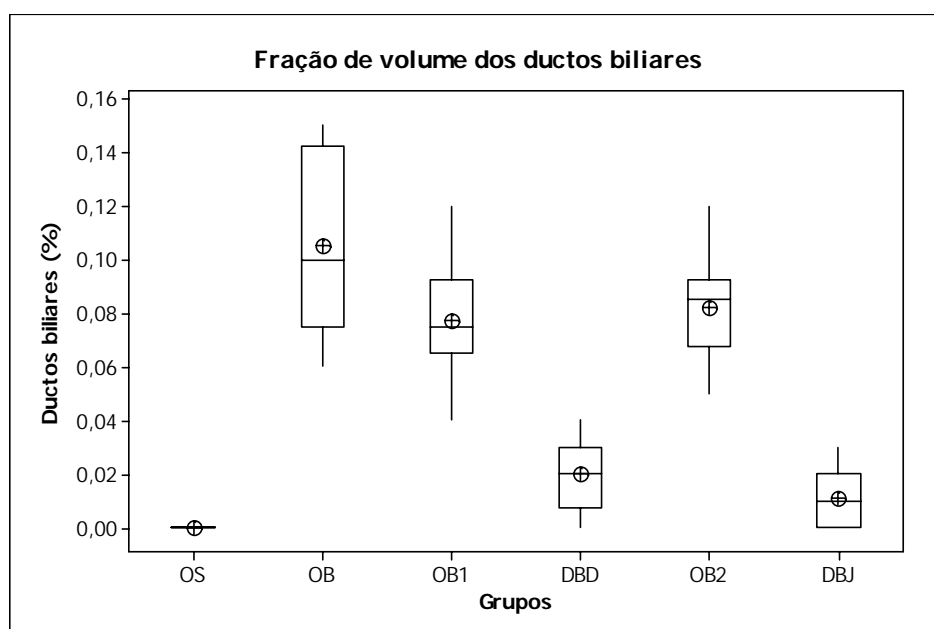


FIGURA 20 - Representação dos valores percentuais da fração de volume dos ductos dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB2 vs DBJ; OS vs (DBD e DBJ).

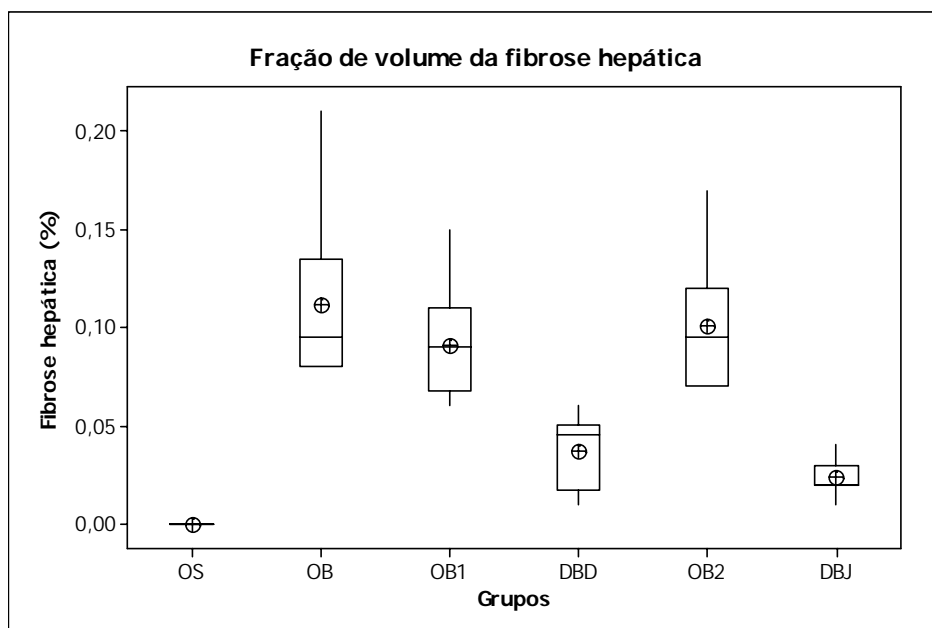


FIGURA 21 - Representação dos valores percentuais da fração de volume da fibrose dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs (DBD e DBJ).

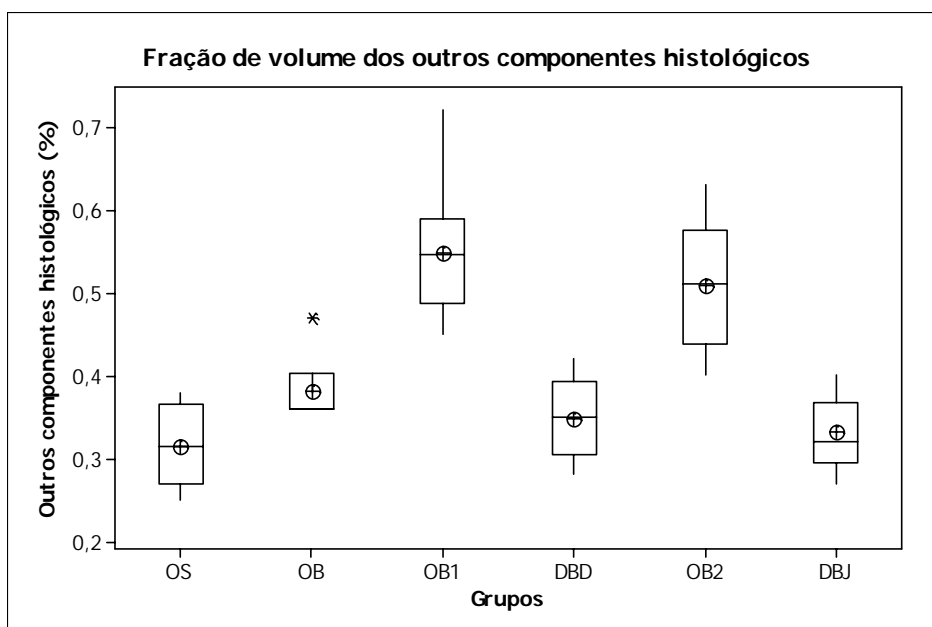


FIGURA 22 - Representação dos valores percentuais da fração de volume dos outros componentes histológicos dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e dos animais OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD e OB2 vs DBJ..

3.5.3 Análise da massa estimada do fígado e microscópica quantitativa dos seus componentes histológicos

Os animais do grupo OB, quando comparados com os animais do grupo OS, apresentavam aumento significativo da massa estimada hepática. Após DBD e DBJ houve redução significativa da massa estimada do fígado em relação ao grupo OB e os valores obtidos foram equivalentes ao grupo OS. Por outro lado, a massa de hepatócitos não se alterou na vigência da obstrução biliar e após as derivações biliodigestivas (TABELA 3) (FIGURAS 23 e 24). Os valores individuais da massa estimada do fígado e dos hepatócitos para os animais dos diferentes grupos estudados estão, respectivamente, nas tabelas 22 e 23 do apêndice A e a análise estatística nas tabelas 49 e 50 do apêndice B.

Tabela 3 – Efeito da obstrução biliar (OB) e das derivações bilioduodenal (DBD) e biliojejunal (DBJ) sobre a massa relativa do fígado e do baço (g/kg), a massa estimada, em g/kg de peso corporal, dos componentes histológicos do fígado e do número de células estreladas hepáticas (média \pm desvio padrão).

	OS (n=8)	OB (n=6)	DBD (n=10)	DBJ (n=10)	
Massa hepática	33,72 \pm 3,37	60,71 \pm 6,38	35,13 \pm 6,75	35,78 \pm 3,35	* 1
Massa esplênica	1,74 \pm 0,13	6,81 \pm 1,39	4,23 \pm 1,53	3,08 \pm 0,57	* 2
Hepatócitos	22,71 \pm 3,19	23,19 \pm 6,22	21,07 \pm 5,49	22,74 \pm 2,42	NS
Fibrose	0,07 \pm 0,05	6,64 \pm 2,19	1,29 \pm 0,56	0,84 \pm 0,31	* 3
Ductos biliares	0,02 \pm 0,02	6,24 \pm 1,77	0,65 \pm 0,43	0,41 \pm 0,33	* 4
Outros componentes	10,61 \pm 1,96	23,37 \pm 3,15	12,12 \pm 2,42	11,90 \pm 2,42	* 1
Células estreladas	24,13 \pm 12,86	38,67 \pm 13,06	71,50 \pm 32,68	56,00 \pm 21,97	* 5

* NS-não significante

*1 comparações múltiplas significativas: OS vs OB e OB vs (DBD, DBJ).

*2 comparações múltiplas significativas: OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ); DBD vs DBJ; OS vs (DBD e DBJ).

*3 comparações múltiplas significativas: OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ); OS vs (DBD e DBJ).

*4 comparações múltiplas significativas: OS vs OB e OS vs (DBD e DBJ).

*5 comparações múltiplas significativas: OB vs DBD; OS vs (DBD e DBJ).

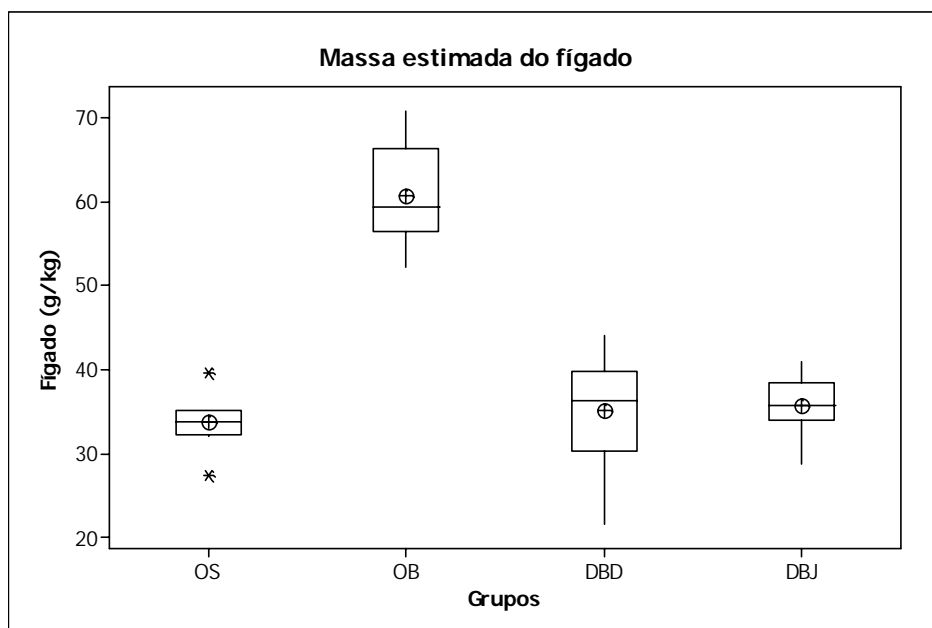


FIGURA 23 - Representação dos valores da massa estimada do fígado em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média).. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS x OB e OB x (DBD e DBJ).

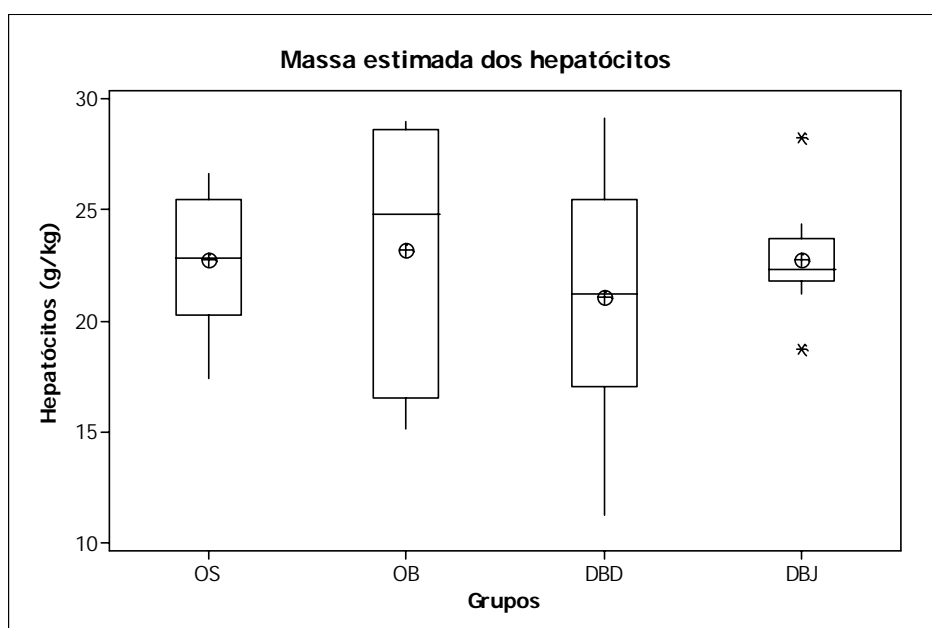


FIGURA 24 - Representação dos valores da massa estimada dos hepatócitos em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Não houve diferença significativa entre os grupos.

Após obstrução biliar houve aumento significativo da massa relativa de fibrose e ductos biliares no grupo OB em relação ao controle. Após as derivações bileodigestivas houve redução significativa da massa estimada de fibrose, tomando como comparação o grupo OB. Por outro lado, após DBD e DBJ não houve redução significativa da massa de ductos biliares. As massas de fibrose e ductos biliares após DBD e DBJ mantiveram-se significativamente mais elevadas em relação aos valores observados no grupo OS (TABELA 3) (FIGURAS 25 e 26). Os valores individuais da massa estimada dos ductos biliares e da fibrose para os animais dos diferentes grupos estudados estão, respectivamente, nas tabelas 24 e 25, no apêndice A e a análise estatística nas tabelas 51 e 52 do apêndice B.

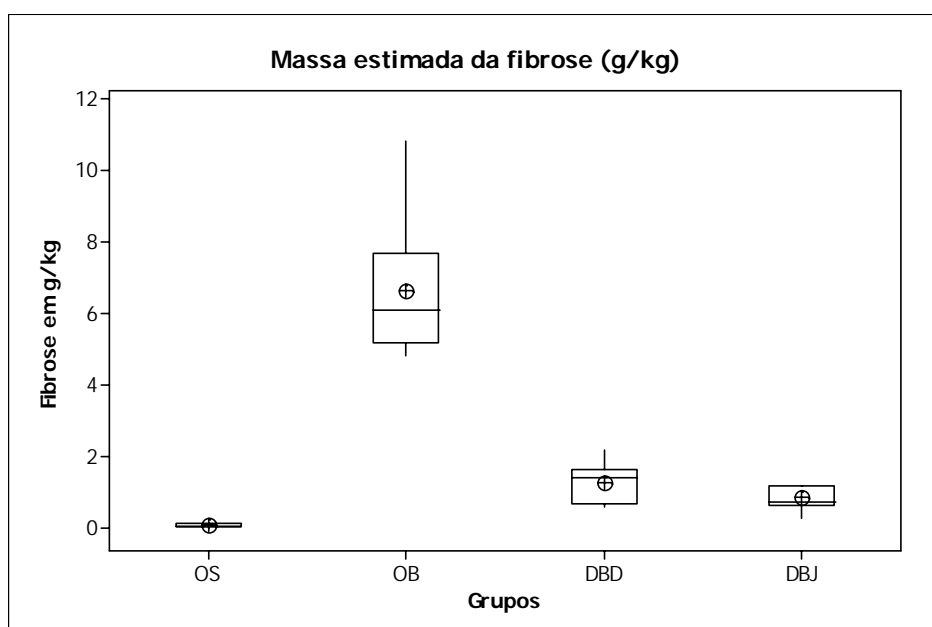


FIGURA 25 - Representação dos valores da massa estimada da fibrose em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ); OS vs (DBD e DBJ).

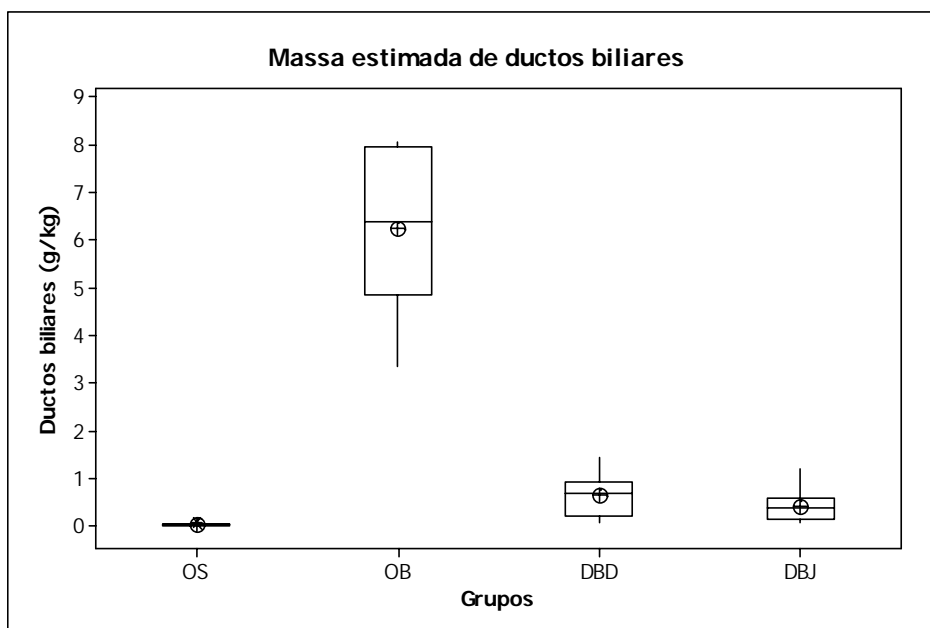


FIGURA 26 - Representação dos valores da massa estimada de ductos biliares em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB e OS vs (DBD e DBJ).

Em relação aos valores da massa relativa dos outros elementos histológicos, houve aumento significativo no grupo OB em comparação ao grupo OS. Após as derivações biliodigestivas houve redução significativa dos outros elementos histológicos com normalização, adotando a comparação com o grupo OS (TABELA 3) (FIGURA 27). Os valores individuais da massa estimada dos outros elementos histológicos para os animais dos diferentes grupos estudados estão na tabela 26 do apêndice A e a análise estatística na tabela 53 do apêndice B.

. Houve aumento significativo das células estreladas hepáticas no grupo DBD em relação ao grupo OB. Após DBD e DBJ, o número de células estreladas manteve-se significativamente maior em relação ao grupo OS (TABELA 3) (FIGURA 28). Os números de células estreladas para cada animal dos diferentes grupos estão na tabela 27 do apêndice A e a análise estatística na tabela 54 do apêndice B.

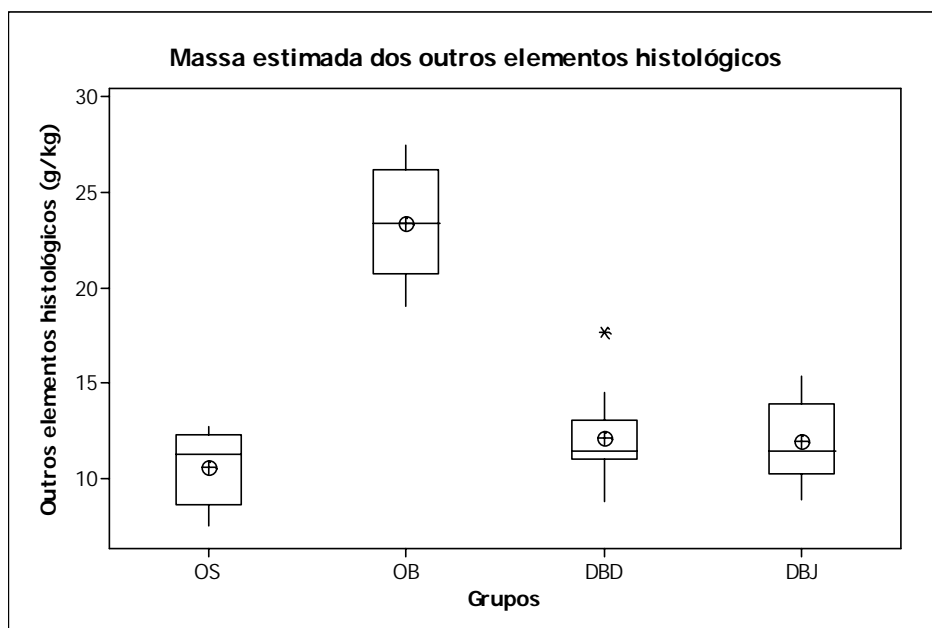


FIGURA 27 - Representação dos valores da massa estimada dos outros elementos histológicos em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB e OB vs (DBD e DBJ).

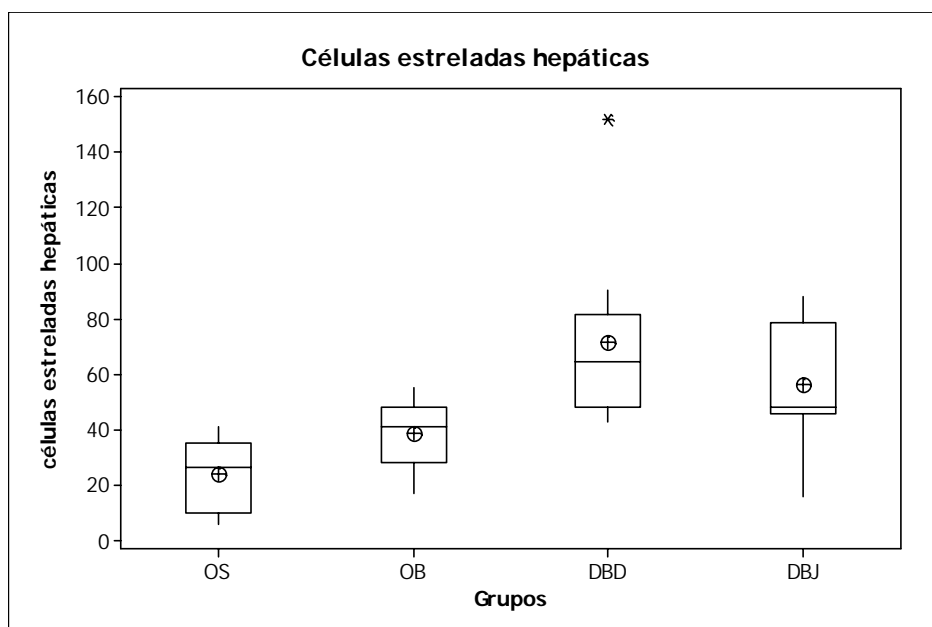


FIGURA 28 - Representação dos valores das células estreladas hepáticas da zona metabólica hepática 1 nos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB), à derivação bilioduodenal (DBD) e derivação biliojejunal (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os Grupos OB vs DBD; OS vs (DBD e DBJ).

3.5.4 Análise da massa estimada do baço

Após obstrução biliar houve aumento significativo da massa relativa do baço no grupo OB em comparação com o grupo OS. Após as derivações bileodigestivas houve redução da massa estimada do baço de forma significativa em relação ao grupo OB. Todavia, na comparação entre DBD e DBJ, a última proporcionou redução mais significativa da esplenomegalia. Por outro lado, nenhuma das modalidades de derivação biliar propiciou a normalização da massa estimada do baço, tomando como comparação o grupo OS (TABELA 3) (FIGURA 29). Os valores individuais da massa estimada do baço para os animais dos diferentes grupos estudados estão na tabela 28 do apêndice A e a análise estatística na tabela 55 do apêndice B.

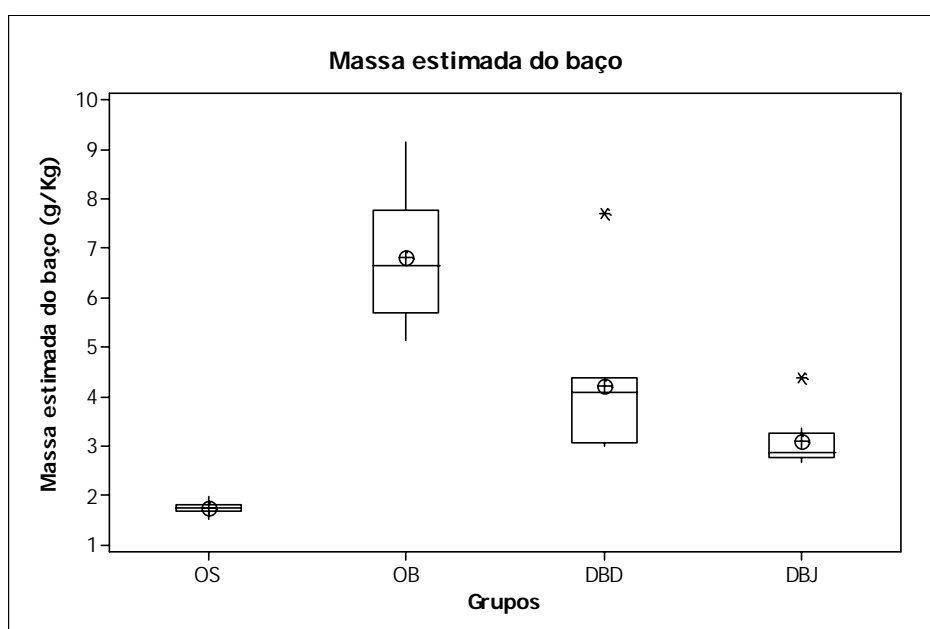


FIGURA 29 - Representação dos valores da massa estimada do baço em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ); DBD vs DBJ; OS vs (DBD e DBJ).

3.6 Análise bioquímica tecidual do fígado

3.6.1 Função mitocondrial

O consumo de oxigênio no estado 3 da respiração mitocondrial, após obstrução biliar, reduziu-se, mas sem diferença significativa em comparação com o grupo OS. Após DBD e DBJ houve aumento significativo do consumo de oxigênio no estado 3 na comparação com OB. Em relação ao consumo de oxigênio no estado 4 houve aumento significativo no grupo

OB em relação ao grupo OS, o qual se manteve após DBD e DBJ. O consumo de oxigênio após DBJ foi significativamente menor em comparação à DBD. Por outro lado, tanto DBD quanto DBJ mantiveram o consumo de oxigênio significativamente maior que o grupo OS (TABELA 4) (FIGURAS 30 e 31). Os valores individuais do consumo de oxigênio nos estados 3 e 4 para os animais dos diferentes grupos estudados estão, respectivamente, nas tabelas 29 e 30 do apêndice A e a análise estatística nas tabelas 56 e 57 do apêndice B.

Tabela 4 – Efeito da obstrução biliar (OB) e das derivações bilioduodenal (DBD) e biliojejunal (DBJ) sobre a fosforilação oxidativa do fígado (média ± desvio padrão).

	OS (n=8)	OB (n=6)	DBD (n=10)	DBJ (n=10)	
Estado 3	89,26 ± 18,07	70,61 ± 8,03	107,97 ± 21,07	107,89 ± 23,23	*1
Estado 4	22,77 ± 5,53	44,43 ± 5,33	47,75 ± 12,21	35,40 ± 9,14	*2
ADP O	1,54 ± 0,11	0,78 ± 0,09	1,24 ± 0,40	1,35 ± 0,26	*3
RCR	4,10 ± 1,21	1,58 ± 0,20	2,23 ± 0,63	3,14 ± 0,67	*4
Potencial de membrana	149,50 ± 2,50	150 ± 0	149,6 ± 0,84	148,60 ± 0,96	NS
Índice de fosforilação oxidativa	136,89 ± 28,36	55,42 ± 10,51	133,71 ± 45,35	144,24 ± 38,39	*5

*1 comparações múltiplas significativas: OB vs (DBD e DBJ).

*2 comparações múltiplas significativas: OS vs OB; DBD vs DBJ e OS vs (DBD e DBJ).

*3 comparações múltiplas significativas: OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ) e OS vs DBD.

*4 comparações múltiplas significativas: OS vs OB; OB vs DBJ; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

*5 comparações múltiplas significativas: OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ)

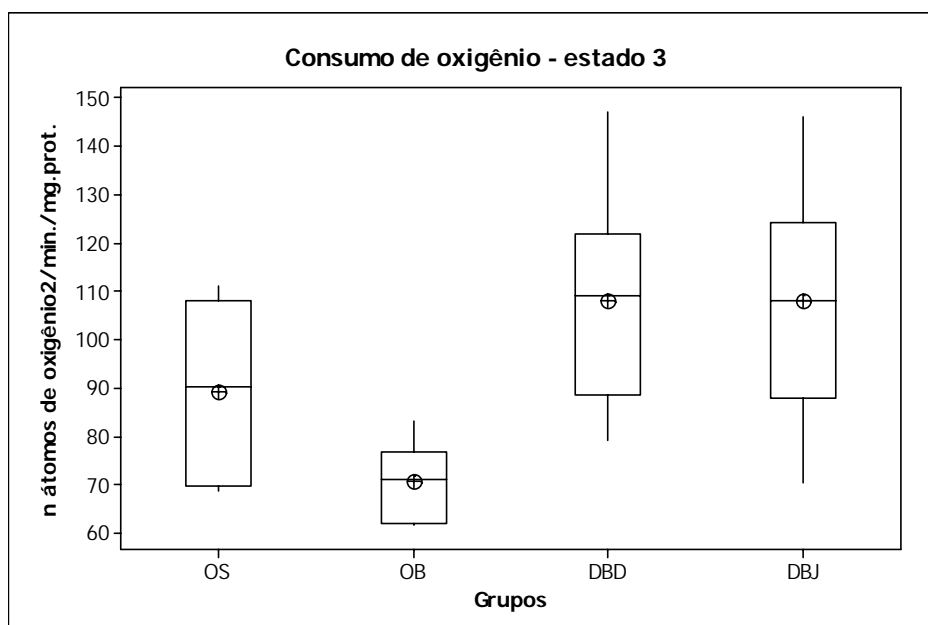


FIGURA 30 - Representação dos valores séricos do consumo de oxigênio pelas mitocôndrias hepáticas (n átomos de oxigênio₂/min./mg.prot.) no estado 3 dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OB vs (DBD e DBJ).

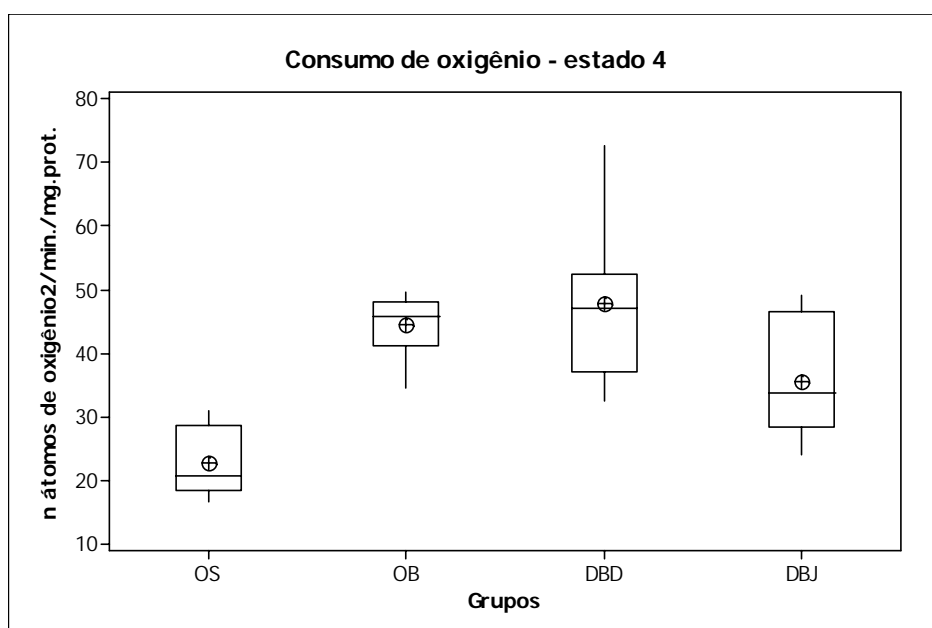


FIGURA 31 - Representação dos valores séricos do consumo de oxigênio pelas mitocôndrias hepáticas (n átomos de oxigênio₂/min./mg.prot.) no estado 4 dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ____ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; DBD vs DBJ e OS vs (DBD e DBJ).

A razão do controle respiratório (RCR) e da ADP-O reduziram-se de forma significativa no grupo OB, quando comparadas ao grupo OS. Após DBD e DBJ, houve aumento significativo dos valores da ADP-O, enquanto o aumento do RCR foi significativo apenas após DBJ. A recuperação da RCR e da ADP-O não se verificou após DBD na comparação com OS (TABELA4) (FIGURAS 32 e 33). Os valores individuais da RCR e da ADP-O para os animais dos diferentes grupos estudados estão, respectivamente, nas tabelas 31 e 32 do apêndice A e a análise estatística nas tabelas 58 e 59 do apêndice B.

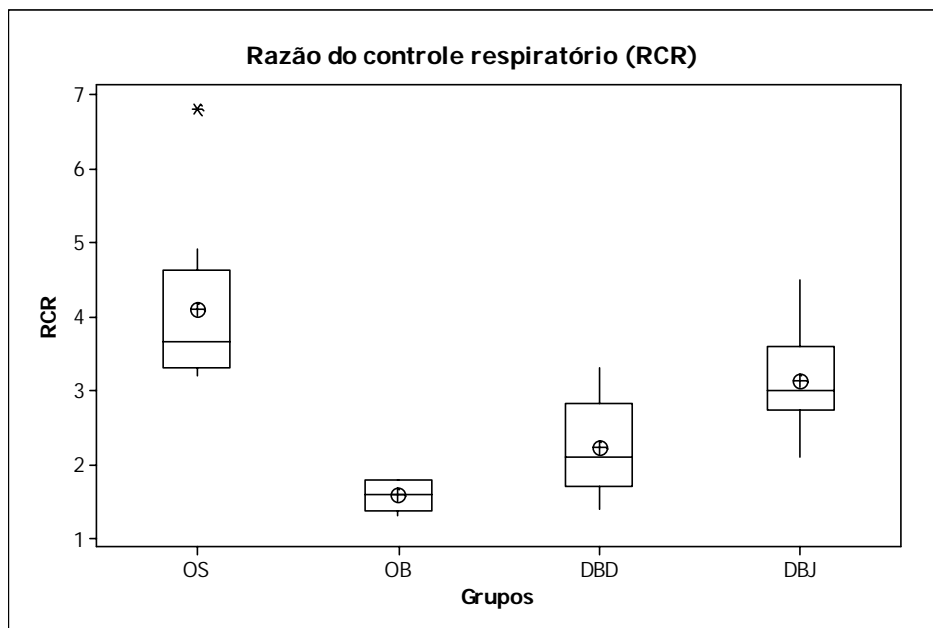


FIGURA 32 - Representação dos valores da razão do controle respiratório (RCR) dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs DBJ; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

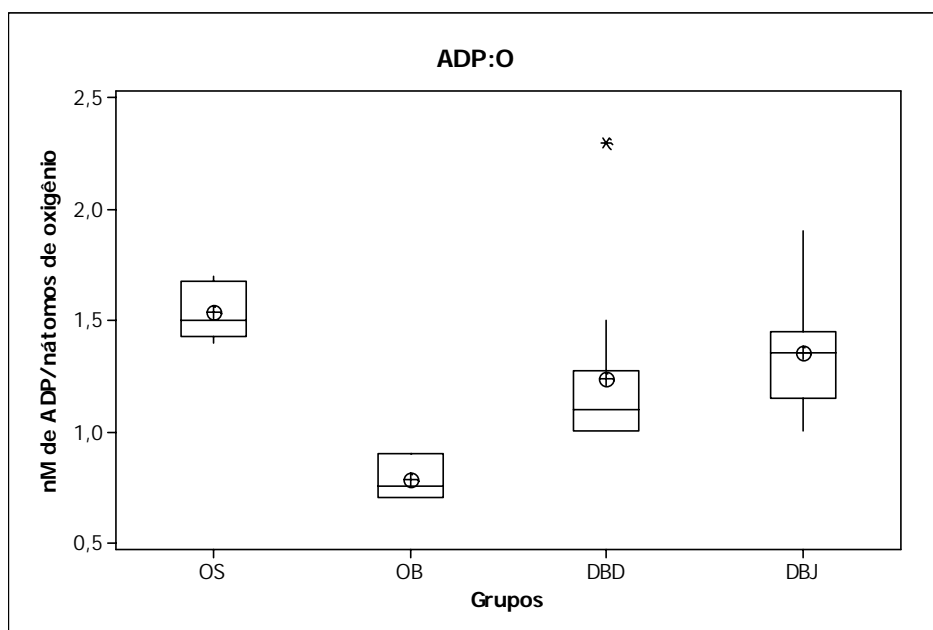


FIGURA 33 - Representação dos valores do ADP:O (nM de ADP/nátomos de oxigênio) das mitocôndrias hepáticas dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ) e OS vs DBD.

Por outro lado, o potencial de membrana mitocondrial não se alterou na vigência da obstrução biliar e após as derivações biliodigestivas (TABELA 5) (FIGURA 34). Os valores individuais do potencial de membrana para os animais dos diferentes grupos estudados estão na tabela 33 do apêndice A e a análise estatística na tabela 60 do apêndice B.

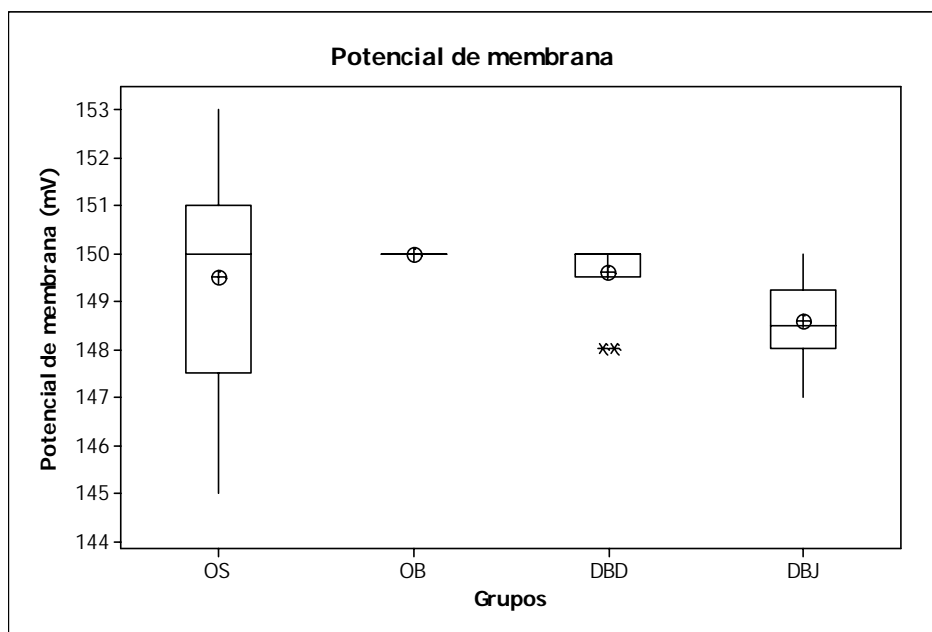


FIGURA 34 - Representação dos valores do potencial de membrana em mV das mitocôndrias hepáticas de ratos em submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

O índice de fosforilação oxidativa reduziu-se significativamente no grupo OB, comparando se com o grupo OS e, após as derivações bileodigestivas, houve aumento significativo em comparação ao grupo OB, atingindo valores equivalentes ao grupo OS (TABELA 5) (FIGURA 35). Os valores individuais da fosforilação oxidativa para os animais dos diferentes grupos estudados estão na tabela 34 do apêndice A e a análise estatística na tabela 61 do apêndice B.

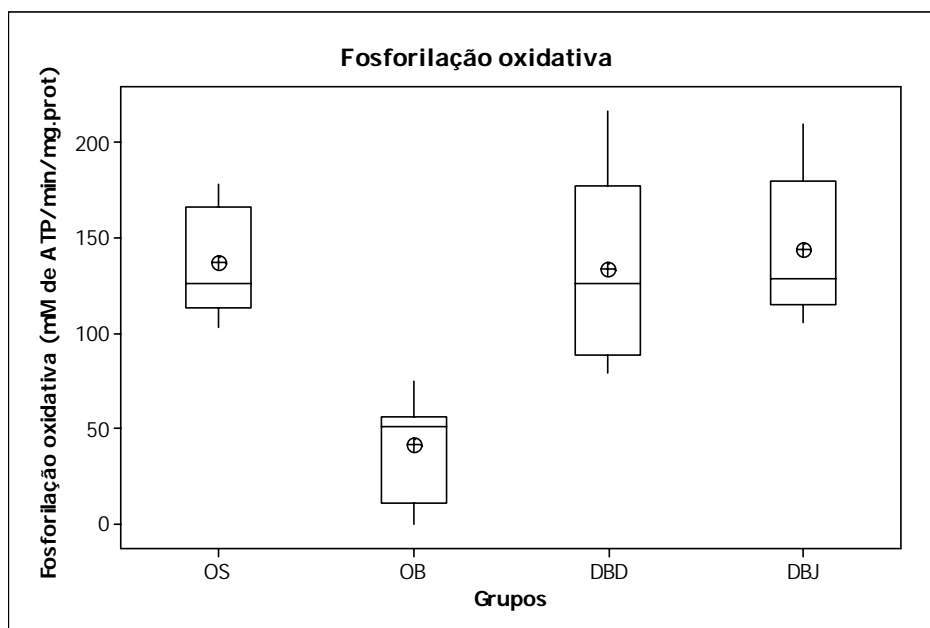


FIGURA 35 - Representação dos valores do índice de fosforilação oxidativa das mitocôndrias hepáticas em nM de ATP/min./mg de proteína de ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Comparações múltiplas significativas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ).

3.7 Análise do malondialdeído hepático

Os valores mediano e médio com o seu desvio padrão de malondialdeído registrados no grupo OB foram, respectivamente, de 34,32 e $(34,76 \pm 5,96\mu\text{M})$, significativamente maiores do que aqueles obtidos para o grupo OS, respectivamente, de 17,79 e $(18,41 \pm 5,46\mu\text{M})$. Após DBD e DBJ, houve redução significativa do MDA em comparação ao grupo OB, atingindo valores mediano e médio com o seu respectivo desvio padrão de 18,31 e $(19,71 \pm 6,12\mu\text{M})$ para DBD e 25,09 e $(21,89 \pm 6,84\mu\text{M})$ para DBJ. Não houve diferenças significativas na comparação entre DBD e DBJ e desses com o grupo OS (FIGURA 36). Os valores individuais do MDA para os animais dos diferentes grupos estudados estão na tabela 35 do apêndice A e a análise estatística na tabela 62 do apêndice B.

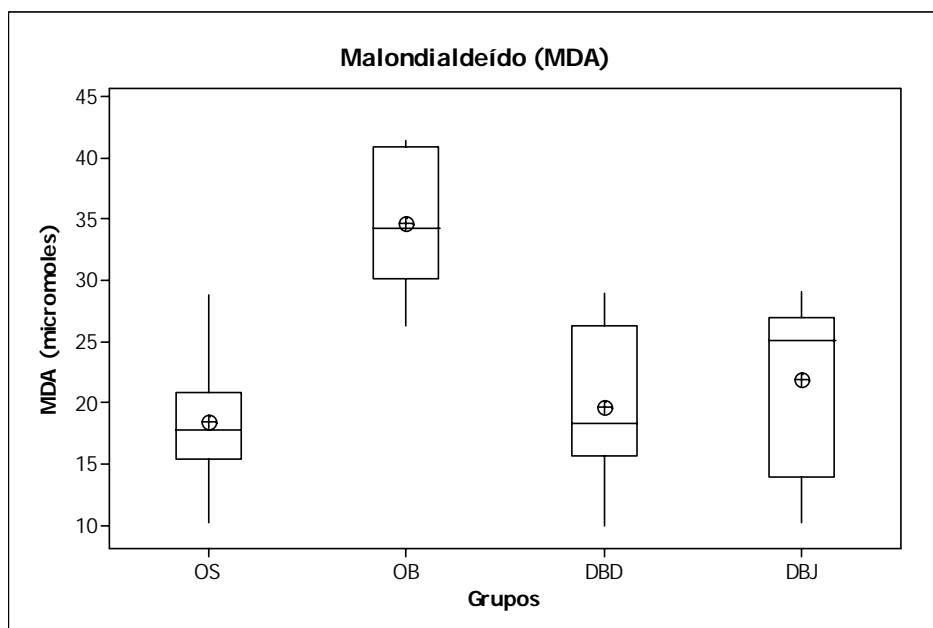


FIGURA 36 - Representação dos valores séricos do malondialdeído (MDA) dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ___ (Mediana), ⊕ (Média). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ).

4. D I S C U S S Ã O

Essa discussão tem como desafio específico compreender os resultados obtidos com esse estudo experimental e, simultaneamente, demonstrar que esse trabalho é parte de um conjunto de indagações acerca da atenção clínica aos pacientes portadores de colestase extra-hepática e da gestão do cuidado e do acesso desses pacientes aos serviços e ao sistema de saúde. Essa contribuição e outras relacionadas ao estudo da colestase extra-hepática, nos aspectos da prevenção, das modalidades de diagnóstico e tratamento e da sistematização do acesso aos serviços de saúde, serão analisadas. A perspectiva é oferecer algumas respostas e apontar a necessidade de estudos clínicos, experimentais e de gestão para o tema da colestase extra-hepática.

Em referência à organização de serviços e sistemas de saúde, é oportuno lembrar que o princípio da descentralização administrativa do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 1990a), aliado à diretriz da hierarquização da atenção à saúde (BRASIL, 1990b) abriu a possibilidade de implantação de redes assistenciais de complexidade tecnológica crescente. Essas redes assistenciais têm a atribuição de prevenir problemas de saúde, diagnosticar e tratar os doentes e reabilitá-los de eventuais seqüelas. Dessa forma, a rede assistencial, que conta com estratégias para reduzir a incidência de colestase extra-hepática, responde aos resultados desse estudo e de outros, onde se demonstra que os tratamentos reduzem de forma significativa os efeitos da obstrução biliar, mas, às vezes, não são suficientes para obtenção da cura, podendo ainda produzir efeitos adversos (HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005; SANTOS et al., 1998, 2005; ZIMMERMAN et al., 1992).

Nesses quase 20 anos de regulamentação do SUS, constatou-se, recentemente, que as redes assistenciais, para funcionarem em sintonia com os problemas de saúde da população, precisam ter o seu modelo de atenção e de gestão do acesso à assistência revisto. Os Complexos Reguladores, com o auxílio dos protocolos clínicos e de regulação (BRASIL, 2006; LOPES et al., 2007; SANTOS et al., 2003, 2007), podem alterar a incidência da colestase extra-hepática, os seus efeitos, bem como a modalidade de investigação e tratamento empregados.

O descompasso entre a necessidade de saúde da população e o acesso aos serviços de saúde, com capacidade resolutiva, passou a ser percebido em nosso meio na primeira década de implantação do SUS (BRASIL, 2006; LOPES et al., 2007; SANTOS et al., 2003, 2007). Uma amostra dessa situação é representada pelas listas de espera para tratamento cirúrgico de afecções de média complexidade, onde destaca-se a colelitíase sintomática. Trata-se de uma afecção de alta prevalência onde a adoção de estratégias para garantir o acesso oportuno, por

exemplo, por meio da implementação do seu tratamento em regime ambulatorial, (SANTOS et al., 2001) pode prevenir complicações que se acompanham de colestase.

O acesso oportuno ao tratamento da colelitíase sintomática, por meio da colecistectomia em regime ambulatorial, pode reduzir a incidência de coledocolitíase, colangite e pancreatite aguda biliar. Por outro lado, a flexibilização do emprego de alguns recursos diagnósticos e terapêuticos sem a preocupação com efeitos adversos a curto e médio prazo reforça a importância das ações de prevenção e da seleção criteriosa dos métodos diagnósticos e terapêuticos. A indicação de colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) na abordagem da pancreatite aguda biliar e a derivação bilioduodenal (DBD) como opção preferencial em relação à biliojejunal (DBJ) na era videolaparoscópica são exemplos emblemáticos da necessidade de estudos para análise, sobretudo a longo prazo, dos efeitos desses procedimentos.

Há cerca de 20 anos, alguns autores passaram a recomendar a realização rotineira da papilotomia endoscópica nas primeiras 72 horas para a pancreatite aguda biliar (FAN et al., 1993; NEOPTOLEMUS et al., 1988a e b). Mais recentemente, observou-se que CPRE de rotina beneficia somente um pequeno número de pacientes, em que o cálculo persiste na via biliar principal, sendo que a maioria deles seria submetida a um procedimento invasivo desnecessário, com seus riscos associados (HAMMARSTROM et al., 1999; CHANG et al., 2000). Outro estudo demonstra que a papilotomia endoscópica não teve efeito significativo na mudança do escore de falência orgânica e nem na progressão das lesões pancreáticas e peripancreáticas (ORIA et al., 2007). Ainda, reforçando a importância das ações que possam prevenir a colestase secundária à pancreatite aguda biliar, recentemente, em nosso meio, demonstrou-se que a despeito da organização do acesso aos serviços de saúde e da incorporação tecnológica com a adoção de procedimentos menos invasivos, as taxas de mortalidade na pancreatite aguda branda e grave não se modificaram (CARVALHO et al., 2007).

Os ataques repetidos de dor biliar podem provocar alterações inflamatórias loco-regionais, configurando o desenvolvimento de quadros agudos (colecistite aguda) ou crônicos (vesícula escleroatrófica), cujo tratamento aumenta a incidência de lesão traumática da via biliar. A lesão traumática da via biliar, por sua vez, também pode ser agravada por dificuldade de acesso oportuno ao tratamento e, não raramente, por reoperações executadas por profissionais com deficiência na formação técnica e/ou ética. Esses fatores podem transformar lesões mais acessíveis às derivações biliodigestivas efetivas em lesões mais complexas. Alguns pacientes com colestase crônica secundária à lesão traumática da via

biliar podem apresentar lesões no fígado como fibrose e cirrose com hipertensão portal, onde a dúvida entre a indicação ou revisão da derivação biliar e o transplante hepático, bem como a evolução pós-operatória ainda persiste (FIGURA 37) e, portanto, comporta estudos experimentais na linha do que foi delineado.

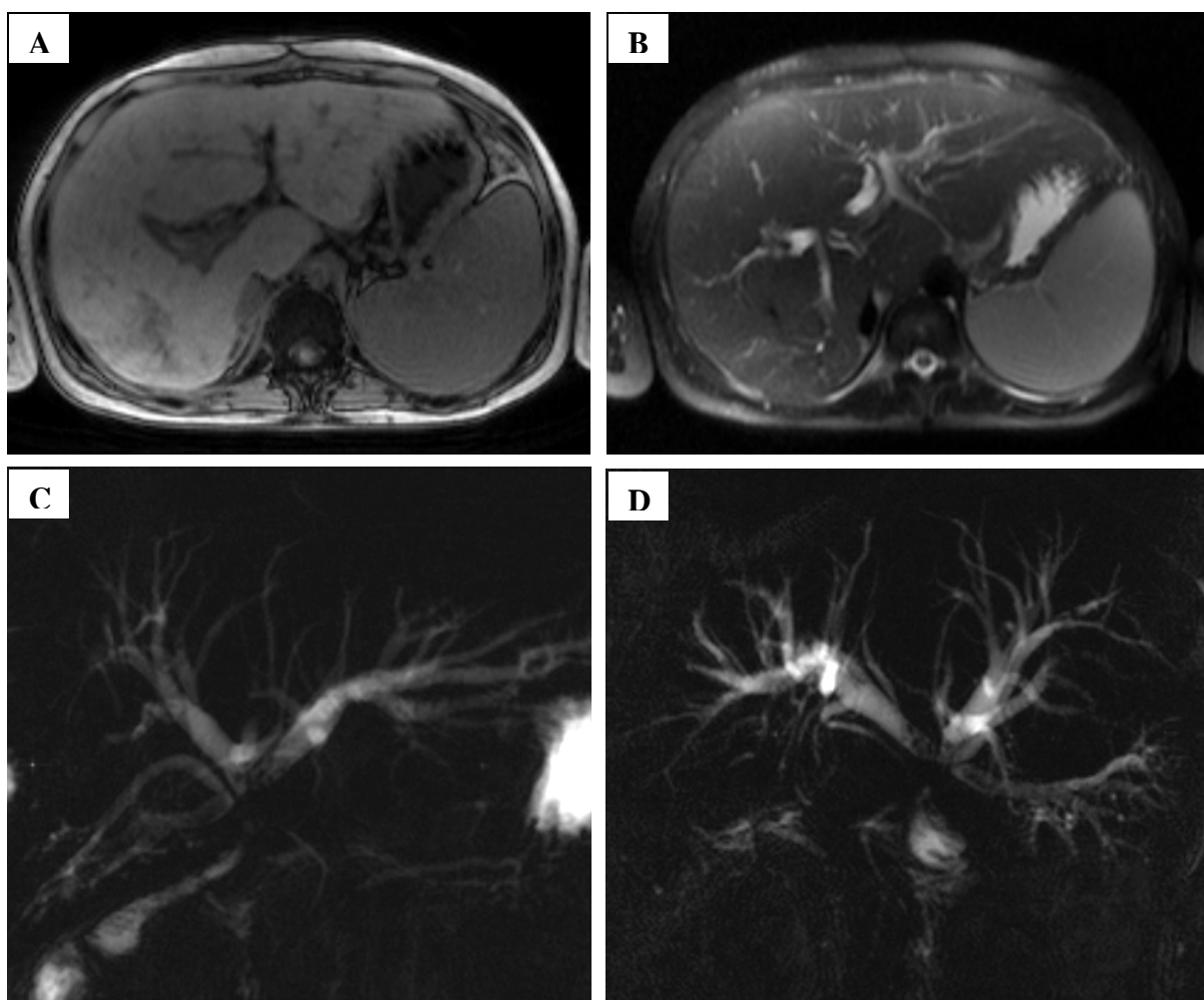


FIGURA 37 - Ressonância nuclear magnética de mulher com 20 anos de idade e lesão traumática da via biliar há 3 anos decorrente de colecistectomia por videolaparoscopia em serviço de média complexidade. Após duas tentativas de reparo da via biliar sem sucesso a paciente foi encaminhada ao serviço de referência terciária com colestase, lesão do tipo E3 de Strasberg (STRASBERG et al, 1995), hepatoesplenomegalia e varizes de esôfago, onde foi submetida à DBJ. **A**) Imagem axial pesada em T1 – hepatoesplenomegalia notando-se heterogeneidade no lobo direito (fibrose), **B**) Imagem axial pesada em T2 – hepatoesplenomegalia notando-se dilatação das vias biliares intra-hepáticas, **C e D**) Colangiografia por ressonância magnética (Imagens coronais oblíquas pesadas em T2) – Dilatação das vias biliares intrahepáticas com lesão da junção dos ductos hepáticos e pequenos cálculos intra-hepáticos. Colédoco e ducto pancreático de calibre preservado. Fonte: Centro de Ciências da Imagem do HCFMRP-USP.

Dessa forma, o percurso dos pacientes com colestase extra-hepática e os indicadores do tratamento dessa afecção podem ser influenciados pela natureza da doença, pela qualidade

da formação técnica e ética dos profissionais e pelas características do sistema de saúde. A análise da influência dos recursos diagnósticos e terapêuticos na abordagem da colestase extra-hepática comporta o desenvolvimento de modelos experimentais que reproduzam as lesões hepáticas crônicas dessa síndrome na perspectiva de orientar a tomada de decisão clínica e até reguladora do acesso ao tratamento.

Em nosso meio foi desenvolvida uma técnica de obstrução biliar em ratos baseada na ligadura com envolvimento do ducto hepático (CASTRO E SILVA JUNIOR et al., 1995). Esse procedimento produz uma zona de fibrose no trajeto da via biliar que dificulta a recanalização, registrada com frequência ante os métodos que envolvem ligadura simples, transecção e ressecção. Ainda, a obstrução biliar por envolvimento do ducto biliar induz alterações mais graves que as registradas na literatura (CAMERON; HASAN, 1958; FRANCO et al., 1979; JOHNSTONE; LEE, 1976; TRAMS; SYMEONIDIS, 1957; ZIMERMANN et al., 1992) e que são compatíveis com a cirrose biliar secundária e hipertensão portal a partir da quarta (KONTOURAS; BILLING; SCHEUER, 1984) e quinta semanas de obstrução (SANTOS et al., 1998).

No presente estudo, a técnica de obstrução biliar foi empregada com o objetivo de obter lesões hepáticas semelhantes àquelas mencionadas na lesão traumática das vias biliares. Após indução da obstrução biliar, os animais desenvolveram aumento significativo das bilirrubinas totais e frações, das aminotransferases, da fosfatase alcalina. Em associação a essas alterações indicadoras da colestase, houve hipoalbuminemia, redução da função oxidativa e fosforilativa das mitocôndrias hepáticas e aumento do estresse oxidativo. Acompanhando essas alterações bioquímicas e metabólicas, ocorreram alterações morfológicas também significativas, caracterizadas por aumento da proliferação ductal e da fibrose, e das respectivas massas estimadas desses componentes, praticamente nas mesmas proporções. Os animais apresentaram hepatoesplenomegalia, mas a massa estimada de hepatócitos manteve-se, diferentemente dos achados do experimento anterior com obstrução biliar empregando a mesma técnica, onde após cinco semanas houve redução significativa da massa estimada de hepatócitos (SANTOS et al., 1998).

As enzimas canaliculares e celulares utilizadas como marcadores para caracterizar as alterações decorrentes da obstrução biliar alteram-se logo nos primeiros dias e estabilizam-se até a quinta semana, mas as alterações morfométricas, que não são acessíveis à avaliação clínica rotineira, parecem ser mais sensíveis ao tempo de obstrução biliar, pois há um agravamento progressivo das lesões (KONTOURAS; BILLING; SCHEUER, 1984). Entre a quarta e quinta semanas já ocorre redução da massa hepatocítica e incremento da fibrose em

relação à massa ductal (SANTOS et al., 1996). Apesar do grande desarranjo hepatocelular com o aparecimento de ilhas de hepatócitos, envoltas por fibrose e da proliferação ductal, o quadro nesse estudo foi caracterizado como fibrose biliar secundária e hipertensão portal.

Tomando como base o caráter progressivo das lesões histológicas, a discussão sobre o acesso à investigação e tratamento oportunos para a colestase extra-hepática crônica torna-se pertinente. Todavia, a realidade mostra que os pacientes por vezes são submetidos à extensas investigações bioquímicas e de imagem, em parte para atender as necessidades de mercado (prestadores de serviços conveniados ou contratados), o que retarda a resolução, modifica a condição do doente e da doença e onera o sistema de saúde.

Não raramente, alguns pacientes com colestase por tumor periampolar são encaminhados para o hospital de referência cerca de 4 a 6 meses após o início do quadro. Dentre as justificativas para o retardo no acesso aparece a necessidade de complementação diagnóstica, por meio de tomografia computadorizada ou ressonância magnética. Esses exames, na maioria das vezes, nada acrescentam à avaliação clínica, bioquímica e ultrassonográfica, suficientes para proceder ao encaminhamento para o hospital de referência terciária (SANTOS et al., 2007). Ademais, esses exames muitas vezes precisam ser repetidos para concluir o estadiamento da doença, em função do tempo decorrido entre os exames realizados fora do hospital de referência e o atendimento, ou da impropriedade dos mesmos para tal finalidade. Outro problema do longo percurso dos doentes com colestase extra-hepática até os serviços de referência é a exposição, de forma indevida, desses pacientes a exames de imagem invasivos e com potencial para interferir no prognóstico, como é o caso da CPRE.

Essas observações motivaram a elaboração de um protocolo clínico e de regulação para os casos de icterícia no adulto e idoso (SANTOS et al., 2007). A sistematização das intervenções diagnóstica e terapêutica para cada componente da rede assistencial, da atenção básica ao hospital terciário, com a ordenação de acesso pelo Complexo Regulador do Sistema de Saúde pode encurtar o percurso e modificar abordagem diagnóstica e terapêutica. Dessa forma, a partir de quatro cenários mais freqüentes de apresentação clínica da colestase extra-hepática pode planejar a investigação com base na estrutura da rede assistencial e da necessidade da doença, de forma a dar mais segurança à assistência, prevenir eventos adversos e garantir a racionalidade na aplicação dos recursos (FIGURA 38).

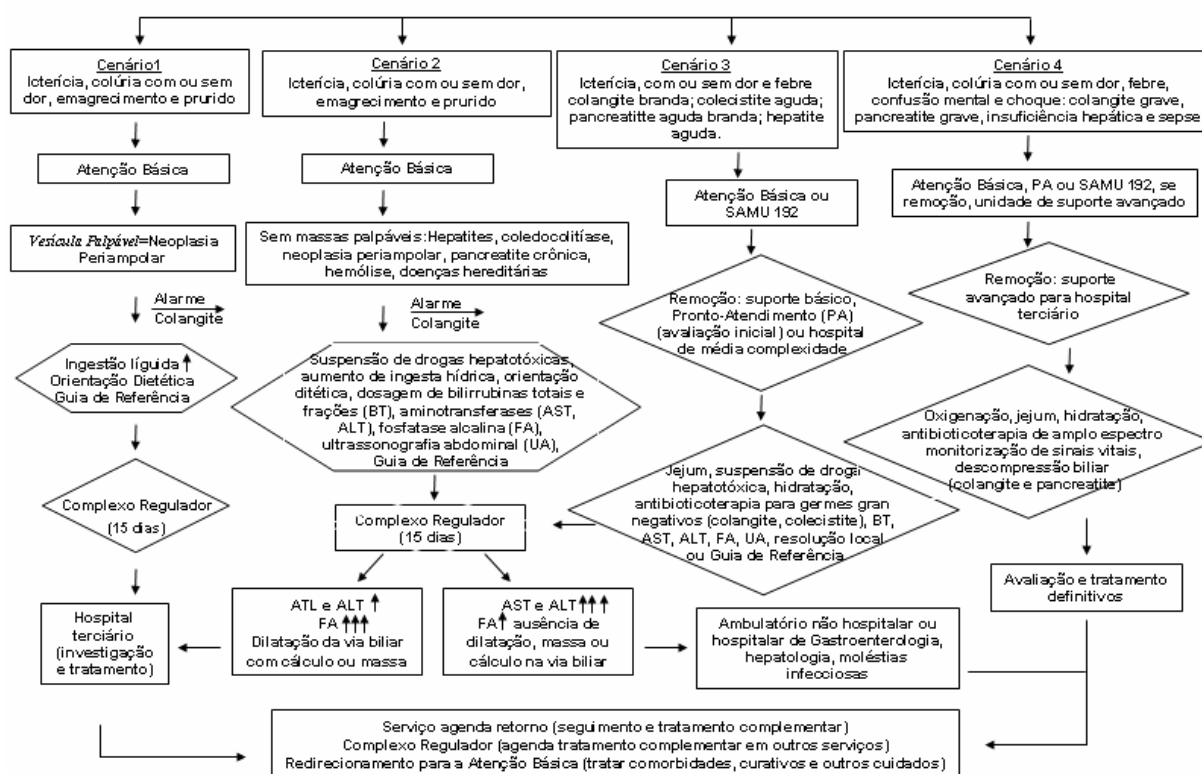


FIGURA 38 - Algoritmo para abordagem clínica e reguladora da icterícia no adulto e idoso na rede assistencial do Sistema Único de Saúde. **Fonte:** Santos et al. (2007).

Uma das motivações para elaboração do protocolo clínico e de regulação foi o resultado de estudo feito em nosso meio para avaliar o efeito da descompressão endoscópica pré-operatória em pacientes com colestase por neoplasia periampolar. Os achados desse estudo reforçam a necessidade de investigar o efeito de procedimentos que interfiram no fluxo dos doentes portadores de colestase extra-hepática na rede assistencial e ainda o emprego de recurso terapêutico que altera a interação entre o trato digestivo e a via biliar (SANTOS et al., 2005).

A descompressão biliar pré-operatória endoscópica, mediante infundibulotomia ou emprego de próteses é indicada com o objetivo de eliminar os efeitos deletérios da hiperbilirrubinemia sobre os sistemas: cardiovascular, excretor, hematológico, imunológico e digestivo (DAWSON, 1965; KIMMINGS et al., 1995) e, dessa forma, melhorar os resultados do tratamento cirúrgico da neoplasia periampolar. O procedimento é adequado para aliviar a colestase, mas por outro lado, o efeito benéfico sobre os resultados cirúrgicos não tem sido confirmado (SANTOS et al., 2005; CORTES et al., 2006).

Dessa forma, o método empregado para descompressão biliar tem suas limitações. Além de não reduzir a morbidade e a mortalidade pós-operatórias, induz ao aparecimento do refluxo enteroiliar caracterizado por restos alimentares e debris no interior da via biliar e

ainda o aumento significativo da contaminação da via biliar por bactérias (TABELA 5) (SANTOS et al., 2005). Esse resultado e de outros trabalhos (HODUL et al., 2003, CORTES et al., 2006) limitam os cenários que comportam a descompressão biliar pré-operatória e reforçam a necessidade de sistematizar o acesso aos procedimentos invasivos, a despeito das vantagens relatadas e da ausência de efeitos adversos apontados por outros autores (SEWNATH et al., 2001; SALEH et al., 2001).

TABELA 5 – Influência da descompressão biliar pré-operatória (grupo I) na incidência de contaminação biliar, infecção pós-operatória, morbidade e mortalidade de pacientes com neoplasia periampolar. **Fonte:** Santos et al, (2005).

	Grupo I (n=14)	Grupo II (n= 39)	p
Contaminação da bile	13 (92.8%)	16 (41%)	0.001
Infecção pós-operatória	7 (50%)	11 (28%)	NS
Morbidade	9 (64.2%)	18 (46%)	NS
Mortalidade	0	3 (7.6%)	NS

NS: Não significante.

O alívio da colestase extra-hepática ante a uma operação de grande porte deve figurar como alternativa entre as medidas pré-operatórias, mas os riscos e os benefícios inerentes ao método empregado para obtenção da desobstrução biliar, as conseqüências da descompressão biliar aguda e as seqüelas, no longo prazo da técnica empregada para derivar a via biliar, não podem ser desconsideradas.

O tratamento cirúrgico da icterícia obstrutiva está associado a taxas elevadas de complicações. A hiperbilirrubinemia, a baixa taxa de filtração glomerular, a presença de produtos de degradação do fibrinogênio, a endotoxemia, a queda do hematócrito e a presença de câncer (HUNT, 1980; DIXON, 1983) estão associadas às taxas de morbidade que variam de 20 a 70 % e às de mortalidade que estão entre 5 e 20 % no período pós-operatório (KIMMINGS et al., 1995; NAKKEEB; PITT, 1995). A mortalidade pós-operatória em estudo experimental com ratos submetidos à DBJ com quatro semanas de colestase foi de 66% (ZIMMERMAN et al., 1992), enquanto nesse experimento foi de 76,19% para o grupo DBD e 83,05% para o grupo DBJ. Esses registros apontam para a necessidade de melhorar a compreensão dos fatores que podem implicar nas elevadas taxas de mortalidade após derivação biliar, não atribuível ao método cirúrgico especificamente empregado.

Estudos experimentais com obstrução biliar extra-hepática demonstraram diminuição do fluxo hepático total (HUNT, 1979; MATHIE et al., 1988), configurando um estado de isquemia hepática funcional decorrente da dilatação do sistema ductal biliar (ROSELINO; CASTRO E SILVA JUNIOR; CENEVIVA, 1992). A hipóxia tecidual hepática pode

desencadear lesões celulares e maior vulnerabilidade aos efeitos deletérios do acúmulo de sais biliares e bilirrubinas.

A descompressão biliar reduz bruscamente a pressão na veia porta, com aumento do fluxo portal, além de reduzir a pressão venosa central e a pressão arterial sistêmica. Sugere-se que, com a reperfusão, possa ocorrer um seqüestro de líquidos no interior do fígado, com liberação de lipases endógenas e radicais livres de oxigênio, culminando com a diminuição do volume plasmático efetivo e hipotensão (STERR, 1968).

A interrupção do fluxo sangüíneo a um órgão seguida da sua reperfusão pode causar resposta inflamatória aguda com dano celular significativo e disfunção orgânica. A reperfusão, após período de isquemia, resulta em perda da viabilidade do endotélio dos sinusóides com distúrbio da microcirculação e da adesão de leucócitos e plaquetas, diminuição do fluxo sangüíneo e perpetuação do processo de isquemia, além de propiciar a ativação das células de Kupffer e neutrófilos (CALDWELL-KENKEL; THURMAN; LEMASTERS, 1988; CYWES et al., 1993).

As células de Kupffer podem gerar vários mediadores inflamatórios que desempenham papel central na lesão de isquemia e reperfusão do fígado, inclusive na produção de radicais livres resultantes da peroxidação de lipídios e de lesão da célula endotelial. Esta resposta resulta em vasoconstrição, agregação plaquetária, quimiotaxia e adesão de neutrófilos às células endoteliais. A produção de citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF α), está relacionada à mediação da resposta inflamatória e níveis elevados foram encontrados em animais com obstrução biliar, (GREVE et al., 1990; FERREIRA et al., 2007) e em pacientes ictericos (HUNT et al, 1982).

Desta forma, há evidências de que a colestase extra-hepática crônica pode reduzir o fluxo sangüíneo portal por compressão extrínseca das vias biliares dilatadas e, conseqüentemente, induzir à isquemia hepática. A derivação biliar pode, de forma aguda, restabelecer os fluxos biliar e portal e proporcionar o fenômeno descrito como lesão de isquemia e reperfusão do fígado. Essas alterações podem estar implicadas nas intercorrências clínicas pós-operatórias do tratamento cirúrgico da obstrução biliar.

Estudo experimental para determinar as alterações morfológicas, bioquímicas, inflamatórias e do metabolismo energético no fígado e no sangue, compatíveis com o fenômeno da isquemia e reperfusão foi conduzido em nosso meio (FERREIRA et al., 2007). Ratos com 2 semanas de obstrução biliar foram submetidos à DBD e avaliados na 6^a e na 24^a horas de pós-operatório. O conjunto de alterações registradas no estudo: elevação significativa das aminotransferases após 6 horas da DBD, aumento dos valores de TNF α (FIGURA 39) aumento do consumo ativado e basal de oxigênio pelas mitocôndrias, manutenção da razão de

controle respiratório baixo (TABELA 6) e o agravamento das lesões histológicas do fígado (FIGURA 40) sugerem que o parênquima hepático, na vigência de colestase, fica susceptível a danos adicionais após a descompressão biliar. É possível que o parênquima hepático em regime de colestase esteja em hipóxia por conta da compressão vascular pelos ductos biliares dilatados e que a descompressão agrave as alterações inflamatórias compatíveis com o fenômeno de isquemia e reperfusão.

Desta forma, os resultados desse estudo auxiliam na ampliação da compreensão dos mecanismos que podem estar envolvidos na elevação das taxas de morbidade e mortalidade após o tratamento cirúrgico da icterícia obstrutiva. Ainda, abrem perspectivas para o estudo de medidas que possam minimizar as alterações compatíveis com o fenômeno da lesão de isquemia/reperfusão no tratamento da descompressão biliar e de suas conseqüências.

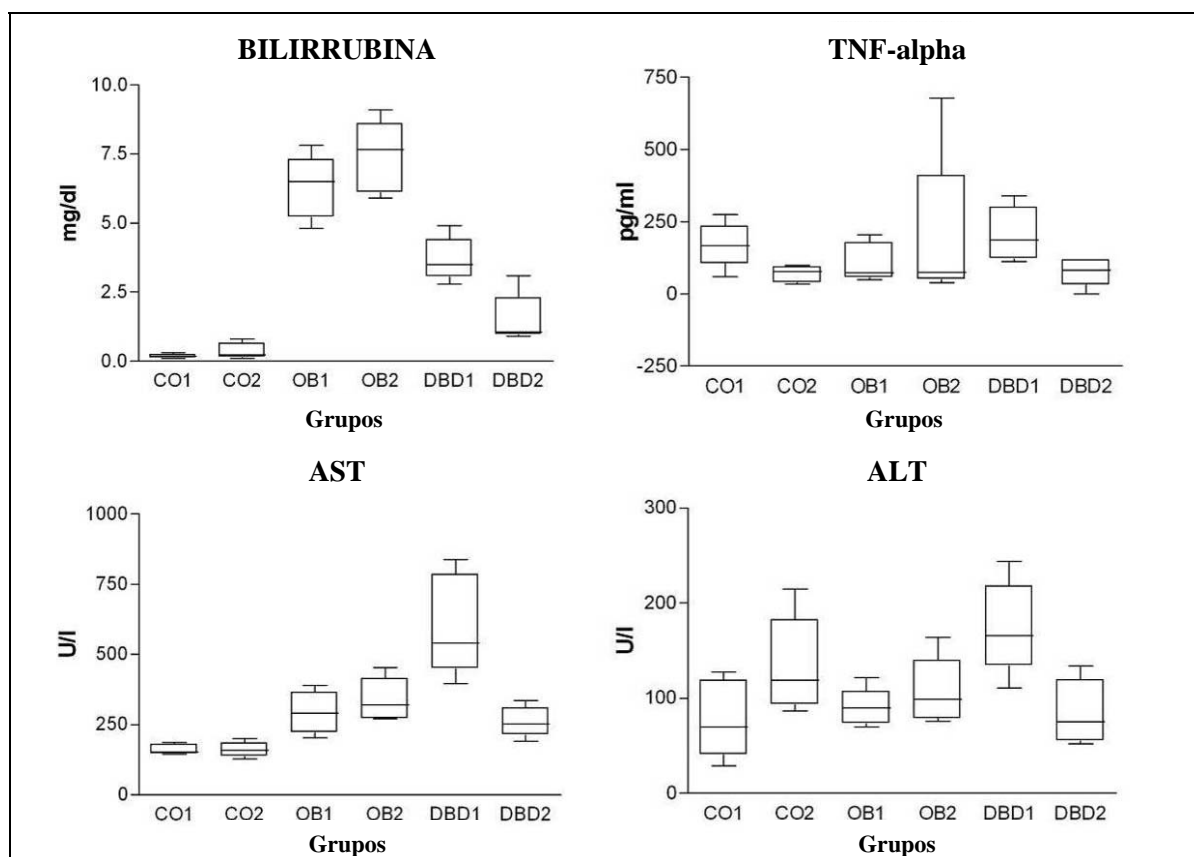


FIGURA 39 - Representação dos valores de bilirrubina, AST, ALT e TNF alfa nos ratos controles avaliados na 6ª hora (CO1) e na 24ª hora (CO2) após cirurgia simulada; nos ratos com 2 semanas de obstrução biliar avaliados na 6ª hora (OB1) e na 24ª hora (OB2) após cirurgia simulada; e nos ratos com obstrução biliar submetidos à DBD na 6ª hora (DBD1) e na 24ª hora (DBD2) após o procedimento. Diferenças significativas foram encontradas: bilirrubinas – entre os grupos CO1 x OB1/OB2/DBD1/DBD2; CO2 x OB1/OB2/DBD1/DBD2; OB1 X DBD2; OB2 x DBD1/DBD2; DBD1 x DBD2 ($p < 0,01$); AST - CO1 x OB1/OB2/DBD1/DBD2; CO2 x OB1/OB2/DBD1/DBD2; OB1 X DBD1; OB2 x DBD1; DBD1 x DBD2 ($p < 0,01$); ALT - CO1 x DBD1; OB1 X DBD1; DBD1 X DBD2 ($p < 0,01$); TNF-alfa – DBD1 X DBD2 ($P < 0,05$). **Fonte:** Ferreira et al. (2007)

TABELA 6 - Valores médios e desvios padrões do consumo de oxigênio pelas mitocôndrias ($\mu\text{MO}_2/\text{min.mg.prot.}10^{-3}$) nos estados 3 e 4 da respiração mitocondrial e da RCR dos diferentes grupos experimentais: nos ratos controles avaliados na 6ª hora (CO1) e na 24ª hora (CO2) após cirurgia simulada; nos ratos com duas semanas de obstrução biliar avaliados na 6ª hora (OB1) e na 24ª hora (OB2) após cirurgia simulada e nos ratos com obstrução biliar submetidos à DBD na 6ª hora (DBD1) e na 24ª hora (DBD2) após o procedimento. Diferenças significativas foram encontradas: estado 3 – entre os grupos CO1 x OB1/OB2/DBD1; CO2 x OB1/OB2/DBD1; OB2 x DBD1; DBD1 x DBD2 ($p<0,01$); estado 4 - CO1 x CO2/OB1/OB2/DBD1/DBD2; CO2 x OB1/OB2/DBD1/DBD2; DBD1 x DBD2 ($p<0,01$); RCR - CO1 x CO2/OB1/OB2/DBD1/DBD2; CO2 x OB1/OB2/DBD1/DBD2 ($p<0,01$). **Fonte:** Ferreira et al. (2007)

	ESTADO 3	ESTADO 4	RCR
CO1	68.67±11.01	17.19±5.06	4.2±1.14
CO2	51.37±9.98	7.89±1.84	6.58±0.67
OB1	131.71±21.2	54.17±9.02	2.47±0.47
OB2	112.96±14.85	51.47±13.42	2.28±0.42
DBD1	142.32±30.66	75.56±18.26	1.91±0.32
DBD2	83.35±21.68	7.27±38.65	2.14±0.18

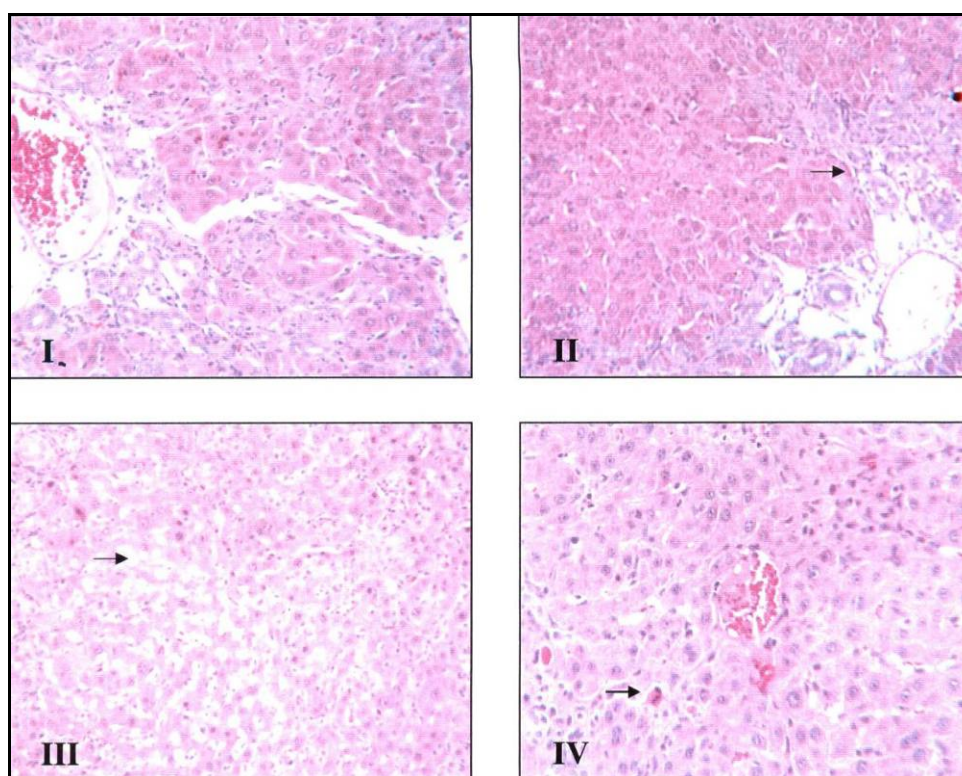


FIGURA 40 - Achados histopatológicos das biópsias hepáticas (H&E). Identificação de alterações lesões compatíveis com lesão de isquemia e reperusão: I- Fotomicrografia do fígado de rato com 15 dias de obstrução biliar após 24 horas de operação simulada com proliferação ductal e discreta fibrose (lesão grau 0); II- Fotomicrografia do fígado de rato com 15 dias de obstrução biliar após 6 horas, onde observa-se permeação neutrofílica (lesão grau 1); III- Fotomicrografia do fígado de rato com 15 dias de obstrução biliar na 6ª hora após DBD onde se observa esteatose (lesão grau 2) e IV- Fotomicrografia do fígado de rato com 15 dias de obstrução biliar na 24ª hora após DBD, onde se observam apoptose e necrose focal (lesão grau 3). **Fonte:** Ferreira et al. (2007)

Os fundamentos apresentados reforçam a necessidade de seleção criteriosa do procedimento de investigação e do alívio da colestase extra-hepática. Ainda, os riscos potenciais inerentes à descompressão biliar, na fase aguda, acentuam a importância da organização do serviço para dar suporte a esses efeitos adversos. Por outro lado, os resultados de longo prazo da descompressão biliar revelados nesse trabalho: restos alimentares nas anastomoses bilioduodenal e biliojejunal, nos canais biliares e na alça exclusiva do Y de Roux, às vezes adquirindo a forma de cálculos com consistência de argila, mesmo na vigência de anastomose ampla; a contaminação da via biliar, estéril durante a obstrução biliar, por germes do trato gastrointestinal e o agravamento das alterações inflamatórias no espaço portal em consonância com achados de outros estudos experimentais (DUTRA et al., 2007; KLAUS et al., 2001; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al., 1998) e clínicos (HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005; SANTOS et al., 2005) que comprovam a presença de estase e refluxo enterobiliar após derivação biliodigestiva, remete-nos à discussão sobre a seleção da modalidade técnica empregada e à estratégia de seguimento dos pacientes.

A escolha da modalidade da derivação para o tratamento da obstrução biliar depende da natureza da afecção, da idade e das condições gerais do paciente, sendo mais importante a experiência do cirurgião do que a patogênese da doença tratada (UCHIYAMA et al., 2003). A DBD tem sido utilizada em pacientes idosos, reservando-se a DBJ para pacientes jovens com expectativa de vida de 10 anos ou mais (ESCUADERO-FABRE et al., 1991). Todavia, há estudos indicando que a DBD deva ser empregada sempre que possível, inclusive em pacientes jovens e com doença benigna (PANIS et al., 1993).

A DBD é mais fisiológica e tecnicamente mais rápida e mais fácil de ser realizada (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000). Além disso, permite o acesso da via biliar à exploração endoscópica (PANIS et al., 1993). Com o advento da abordagem por videolaparoscopia, tem ocorrido, com já foi mencionado, maior flexibilização de sua indicação no tratamento da obstrução biliar.

Por outro lado, na DBD látero-lateral existe a possibilidade dos resíduos alimentares acumularem-se no colédoco distal em decorrência do refluxo enterobiliar e, conseqüentemente, predispor à colangite ascendente (STEFANINI et al., 1974). Entretanto, se a anastomose for ampla e sem estenoses, a presença de restos alimentares no colédoco distal será intermitente e não propiciará sintomas. O risco de colangite após DBD está relacionado a processos obstrutivos e varia de 0 e 6% (PANIS et al., 1993). A DBJ é mais complexa do ponto de vista técnico, além de dificultar o acesso da via biliar, após a cirurgia por meios endoscópicos. No acompanhamento a curto e em longo prazo, não houve diferença

de resultados entre DBD e DBJ em relação ao aparecimento de colangite (PANIS et al., 1993).

De outra forma, Hashimoto e Ohyanagi (2000) compararam os resultados clínicos entre DBD e DBJ e sugeriram que a estase biliar e a pressão aumentada na alça exclusiva do Y de Roux podem causar refluxo, colangite e danos hepáticos permanentes. Concluíram, então, que a DBD é mais fisiológica e tem menor índice de complicações que a DBJ, desde que haja uma anastomose ampla e que permita fluxo adequado de bile para o intestino.

Cerca de 10 a 15% dos pacientes com DBJ podem evoluir com síndrome da alça cega e colangite. Estes sintomas podem ser decorrentes de obstruções mecânicas, porém nos casos em que estas complicações são afastadas, um obstáculo funcional, secundário à ruptura da propagação dos potenciais de marcapasso, originados no duodeno, pode ocasionar estase e colangite (KLAUS et al., 2001).

Dessa forma, na vigência da obstrução biliar existe controvérsia acerca do procedimento de derivação biliar a ser empregado. Classicamente, DBD, DBJ e esfínteroplastia parecem ser efetivos para o tratamento das obstruções biliares. Após a esfínteroplastia, indicada para as estenoses do esfíncter de Oddi ou do cálculo impactado (VOGT; HERMANN, 1980), a DBD é o procedimento de desobstrução biliar mais freqüentemente realizado. Apesar de simples, mais fisiológica e rápida, pode propiciar o refluxo enterobiliar (REB) e o desenvolvimento de colangites (VOGT; HERMANN, 1980; MORACA et al., 2002)

A DBJ desvia o trânsito gastrintestinal da via biliar minimizando o REB. O procedimento cirúrgico é mais complexo, requer duas anastomoses e deveria ser reservada para aquelas situações no qual o duodeno está aderido, com cicatrizes e não pode ser devidamente mobilizado (PANIS et al., 1993; MORACA et al., 2002). Além disso, a exclusão de um segmento de alça jejunal do trânsito intestinal propicia o aparecimento de distúrbios motores propiciando estase e colangite (DUCROTE et al., 2001; KLAUS et al., 2001, 2003).

Fatores como o esfíncter de Oddi, a separação dos canalículos biliares dos sinusóides hepáticos pelos hepatócitos, a fagocitose pelas células de Kupffer e um bom fluxo biliar mantêm a bile livre de bactérias (HANAU; STEIGBIGEL, 2000). Após as derivações biliodigestivas, ante a eliminação funcional do mecanismo esfíncteriano, ocorre redução da pressão positiva do ducto biliar que passa a comportar-se como estrutura passiva na anastomose bilioentérica (MORGENSTERN; SHORE, 1970). Desta forma, o poder propulsivo do duodeno ou jejuno sobrepõe à pressão da via biliar facilitando o refluxo, o que pode propiciar contaminação bacteriana da bile e estase alimentar na via biliar drenada, como foi

demonstrado nesse trabalho e em outros estudos (CHUANG et al., 2001; SANTOS et al., 1998, 2005).

Desta forma, a circulação de conteúdo entérico na via biliar não é tão benigna como afirma Goldman, Steer e Silen (1983), mesmo com anastomose ampla e pérvia.

Esse trabalho demonstrou que na vigência da obstrução biliar, os animais apresentavam leucocitose significativa e o conteúdo biliar, apesar de algumas vezes estar espesso, amarelado e com grumos era estéril. A contaminação ocorre após o estabelecimento da comunicação com o intestino. Há mudança na intensidade e no padrão da inflamação, principalmente, na zona 3 do lóbulo hepático. As derivações biliodigestivas induzem ao REB, à estase e à proliferação bacteriana, os quais podem explicar o aparecimento de colangite na ausência de obstáculo mecânico.

Os mecanismos pelos quais as bactérias contaminam a via biliar ainda não motivos de discussão. As possibilidades incluem infecção ascendente proveniente do intestino e ou disseminação linfática e vascular a partir do fluxo venoso portal ou arterial hepático. A ausência de bactibilia e a inflamação discreta observada na vigência de obstrução biliar total indicam que a disseminação vascular e linfática de germes entéricos, se presentes, têm papel secundário na gênese da colangite. A abertura da via biliar para o intestino, independente da modalidade de derivação empregada, promove a contaminação bacteriana com germes intestinais gram-negativos e reforça a tese da existência da colangite ascendente.

Uma observação relevante, que reforça o conceito da colangite ascendente, foi o achado de *Escherichia coli* na cultura da bile em ratos com colestase submetidos à derivação biliar apenas para o duodeno, em comparação àqueles que possuíam derivação para a bexiga, (DIAMOND et al., 1990). As bactérias da bile podem refluir para o sangue em condições de baixa pressão e sem obstrução biliar (HUANG; BASS; WILLIAMS, 1969). Todavia, poucas bactérias atingem o sangue, provavelmente porque são destruídas pelo hepatócito (RAPER et al., 1989). A elevação da pressão na via biliar, com ou sem obstrução biliar, proporciona a passagem de bactérias pelos hepatócitos e este fator é mais importante que os sais biliares na destruição das junções celulares (TOYOTA; MIYAI; HARDISON, 1984). A presença freqüente de alimento na via biliar drenada, como foi observada no presente trabalho, pode produzir arrolhamentos transitórios que elevam a pressão intrabiliar e a bile já contaminada predispõe ao desenvolvimento de colangite na ausência de obstrução comprovada da via biliar. Esse fenômeno é descrito em cerca de um terço dos casos de colangite e justifica a adoção de mecanismos para preveni-lo.

Neste estudo, a DBJ foi realizada com a alça exclusiva em Y de Roux de 15 cm, com

base no trabalho de Cheng et al. (1995), no qual relataram que, no homem, o comprimento total do jejuno e do íleo é de cerca de 260 cm. O tamanho da alça usualmente empregada no Y de Roux é de aproximadamente 40 cm, o que corresponde a 15% do intestino delgado. O comprimento do jejuno e do íleo do rato é de cerca de 100 cm, de modo que uma alça de 15 cm corresponderia a 15% deste comprimento.

O refluxo alimentar para a via biliar, após anastomose biliojejunal com alça de Roux de 45 centímetros de comprimento, não foi observado (MUSGROVE; GRINDLAY; KARLSON, 1952) ou, quando presente, foi discreto (MORGENSTERN; SHORE, 1970). Em ratos submetidos à DBJ com alça exclusiva de 2,5 cm, também não foi registrada a presença de refluxo alimentar para a via biliar (ZIMMERMANN et al., 1992). Em trabalho anterior, realizado em nosso meio, todos os ratos com cirrose biliar secundária, tratados mediante DBJ em Y de Roux com alça de 5 cm apresentaram restos alimentares nas vias biliares e na alça exclusiva, porém com menor intensidade em relação aos animais tratados com DBD (SANTOS et al., 1998). A expectativa de que uma alça exclusiva de 15 cm pudesse evitar o refluxo enterobiliar não se confirmou. Todavia, parece que há a minimização desses efeitos adversos após DBJ, onde ocorreu normalização das bilirrubinas totais e da fosfatase alcalina bem a reparação da respiração ativada e da RCR. Ainda, na recuperação da esplenomegalia, a DBJ obteve desempenho mais efetivo.

Em estudo com pacientes portadores de obstrução biliar por afecção benigna submetidos à DBD e DBJ e acompanhados por período de até 16 anos, os autores não encontraram diferenças na evolução clínica entre os tratamentos, mediante avaliação pelos marcadores de colestase, presença de colangite e o tempo na eliminação hepática do radiotraçador na cintilografia hepática dinâmica (PLAISIER et al., 2001). Estudo experimental, em ratos, com cirrose biliar secundária à obstrução por mais de 30 dias e tratados mediante DBD e DBJ com 5 cm de extensão não demonstrou diferenças entre as derivações em relação à evolução bioquímica, a recuperação da função mitocondrial e a capacidade de reversão da esplenomegalia. Porém, observou-se fibrose associada a infiltrado inflamatório misto em todos os animais, com maior intensidade na DBD (SANTOS, et al., 1998).

A necessidade de compreender os efeitos das derivações biliodigestivas sobre a relação entre o trato digestório e a via biliar, bem como as possíveis repercussões hepáticas, tem ampliado a metodologia de investigação em nosso meio. Desta forma, foi realizado um estudo em ratos com 2 semanas de obstrução biliar, tratados mediante DBD e DBJ, com a finalidade de quantificar o refluxo enterobiliar e o fluxo hepatobiliointestinal na perspectiva

de correlacioná-los com os aspectos morfológicos do fígado e bioquímicos do sangue (DUTRA et al., 2007). Os autores registraram desempenho semelhante na reparação das alterações histológicas (FIGURA 41) e na regressão dos valores dos marcadores da colestase. O REB e a excreção hepatobiliar, avaliados mediante emprego de métodos cintilográficos, foram semelhantes para as duas modalidades de derivação biliar, mas quando comparado ao grupo controle, os animais submetidos à DBJ demoraram mais para atingir a concentração máxima de elemento radioativo no fígado, bem como para eliminá-lo (FIGURA 42). Esses achados abalam a vantagem teórica, historicamente atribuída à DBJ e aponta para a necessidade de compreender e avaliar alternativas para as alterações que persistem ou surgem após as derivações biliodigestivas.

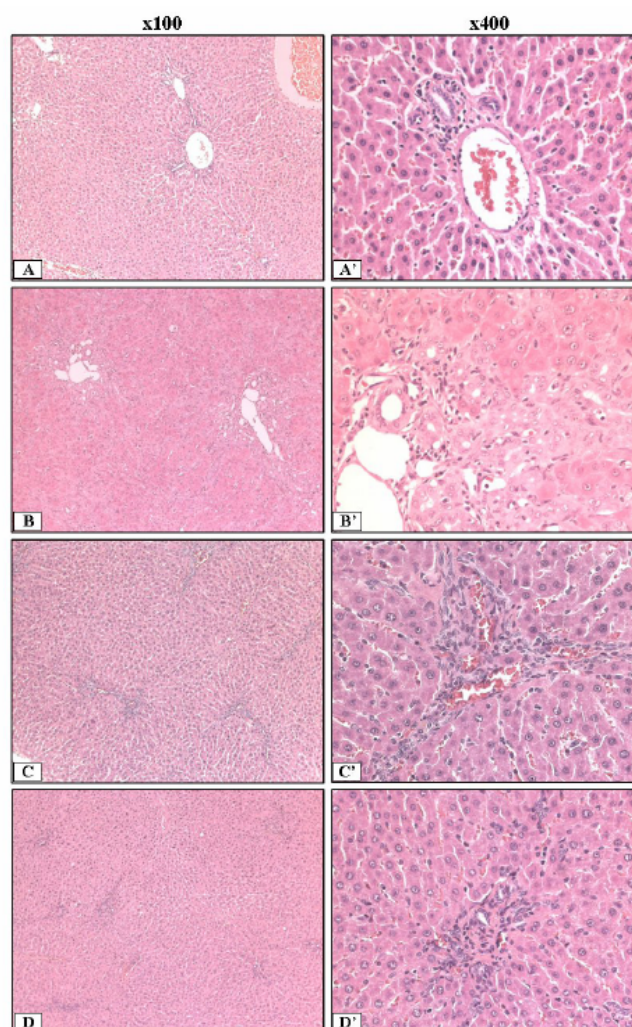


FIGURA 41 - Achados histopatológicos das biópsias hepáticas (hematoxilina e eosina). A e A' grupo controle com arquitetura hepática normal. B e B' grupo com obstrução biliar com proliferação ductal e infiltrado celular inflamatório moderado e fibrose discreta nos espaços portais. C e C' grupo submetido à DBD. D e D' grupo submetido à DBJ; observa-se aspecto histológico similar entre esses grupos - proliferação ductal discreta associada a infiltrado celular inflamatório e fibrose portal brandas; compare o grau de proliferação ductal com o grupo da obstrução biliar (B e B'). Coluna direita (x 100), coluna esquerda (x 400). **Fonte:** Dutra et al. (2007).

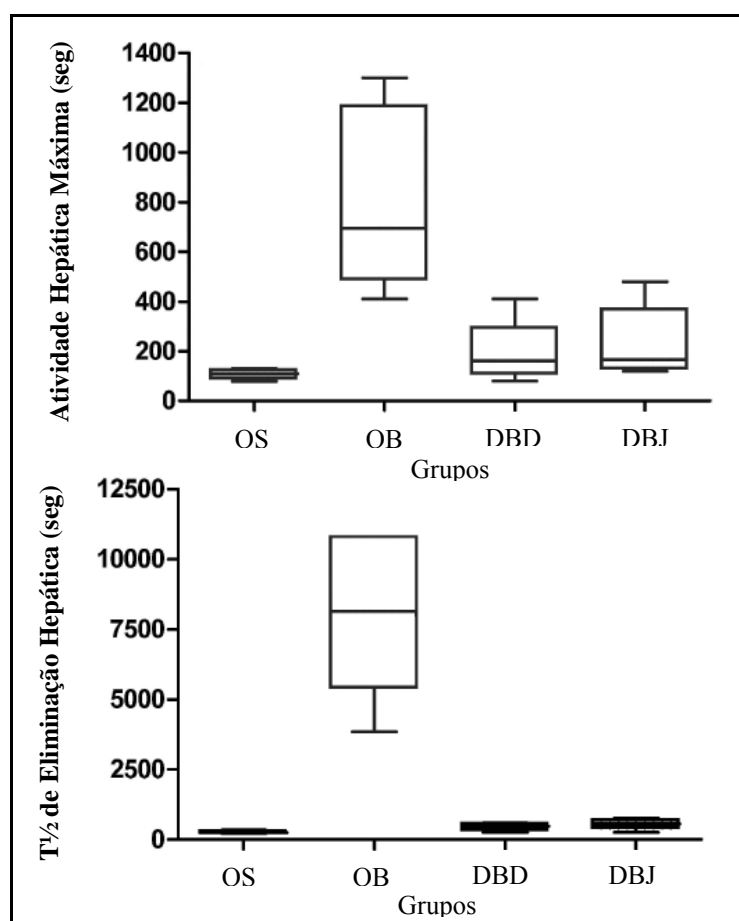


FIGURA 42 – (A) Atividade hepática máxima obtida pela injeção de Tecnecium-99m em ratos submetidos à operação simulada (OS), obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ): OS x OB, $p=0.002$; OB x DBD, $p=0.005$; OS x DBJ, $p=0.025$; OB x DBJ, $p=0.005$. Em (B) Tempo de eliminação do radiotraçador ($T_{1/2}$), expresso em segundos, obtido após injeção do Tecnecium-99m: OS x OB, $p=0.002$; OB x DBD, $p=0.002$; OB x DBJ, $p=0.002$; OS x DBJ, $p=0.017$. **Fonte:** Dutra et al. (2007)

O retardo na excreção hepatobiliointestinal, após DBJ, oferece subsídio para a compreensão da maior incidência de colangite nessa modalidade de derivação na ausência de obstrução mecânica (DUTRA et al., 2007), dá respaldo às observações clínicas de Hashimoto, Kotoura e Ohyanagi (2005) e remete à necessidade de analisar alternativa proposta pelos autores centrada na drenagem da alça excluída por meio de anastomose duodenojejunal. Enquanto a DBD induz ao aparecimento de refluxo enterobiliar e à contaminação da via biliar, a DBJ acrescenta a esses dois fenômenos a estase na alça excluída do Y de Roux, um fator que pode estar implicando nos resultados dessa pesquisa. Por outro lado, esses achados entram em descompasso com as observações anteriores que vinham apontando pequenas vantagens ao tratamento por meio de DBJ, em especial no desempenho na recuperação da arquitetura hepática (SANTOS et al., 1998) e desse estudo onde as vantagens para DBJ com 15 cm de extensão se ampliaram..

No presente trabalho as duas modalidades de derivação biliar reduziram de forma significativa os marcadores celulares e canaliculares da colestase em relação aos animais com obstrução biliar, mas a DBD, a despeito das anastomoses estarem amplas, não aliviou por completo a colestase; as bilirrubinas totais e a fosfatase alcalina permaneceram elevadas em relação ao grupo controle. A DBD induziu à hipoalbuminemia. A leucocitose reduziu-se de forma significativa após as duas modalidades de derivação biliar, mas os valores obtidos ainda mantiveram-se elevados em relação ao Grupo OS. Esse conjunto de alterações residuais pode ser decorrentes do REB, da estase e da contaminação ascendente da via biliar.

O metabolismo energético das mitocôndrias hepáticas dos animais com colestase, mensurado pela razão do controle respiratório e pelo índice de fosforilação oxidativa, foi significativamente reduzido em relação aos animais controles, porém sem lesões irreversíveis na membrana mitocondrial interna. As duas modalidades de derivação biliar aumentaram o índice de fosforilação oxidativa, atingindo níveis equivalentes aos animais do grupo controle. Todavia, a DBJ apresentou melhor desempenho no restabelecimento do acoplamento para fosforilação oxidativa e para respiração ativada avaliada pelo consumo de ADP adicionado ao meio de respiração celular.

A massa hepática aumentou significativamente na vigência de obstrução biliar por quatro semanas, em decorrência do aumento da massa de ductos biliares, da fibrose e dos outros elementos histológicos do fígado. A massa dos hepatócitos manteve-se, diferente da redução observada em estudo anterior empregando a mesma técnica de obstrução biliar durante cinco semanas (SANTOS et al., 1996). Acompanhado a essas alterações, houve aumento das células estreladas e da massa esplênica.

O conjunto de achados relativos à colestase, às alterações metabólicas e morfométricas do fígado, atesta a efetividade do método de obstrução biliar empregado. O quadro pode ser caracterizado como fibrose biliar secundária com hipertensão portal tomando a esplenomegalia como seu indicador e, portanto, favorável à verificação dos efeitos das DBD e DBJ sobre o conjunto das variáveis estudadas.

As duas derivações empregadas reduziram a hepatomegalia e os valores obtidos para a massa hepática foram equivalentes àqueles obtidos nos animais controles. As duas modalidades de derivação bileodigestiva foram eficazes no restabelecimento da massa hepática, mas as massas de ductos biliares e de fibrose na avaliação quantitativa ainda permaneceram elevadas em relação aos animais controles, o que associado ao aumento das células estreladas pode ter contribuído para a manutenção da esplenomegalia. Embora não tenha ocorrido regressão completa da esplenomegalia, houve redução da massa esplênica após

DBD e DBJ em relação aos animais com obstrução biliar e a regressão foi mais acentuada após DBJ, na comparação com DBD, o que representa mais uma vantagem.

Os resultados desse trabalho reforçam o conceito da reversibilidade das alterações colestáticas e metabólicas após alívio da colestase, mesmo na vigência de lesões avançadas presentes na fibrose e na cirrose biliar secundária. Essas observações alinham-se com o conceito desenvolvido a partir de observações de natureza clínica (HAMMEL et al., 2001) e experimental (ABDEL-AZIZ et al., 1990; ARONSON et al., 1993; SANTOS et al., 1998; ZIMMERMAN et al., 1992). Por outro lado, esses achados contrapõem-se aos registros de progressão das lesões hepáticas para fibrose e cirrose biliar secundária, mesmo após resolução da colestase (ALTMAN; CHANDRA; LILLY, 1975; GAUTIER et al., 1984) e indica que, na medida do possível, a desobstrução biliar efetiva deve preceder a indicação do transplante hepático para os pacientes com fibrose ou cirrose biliar secundária.

A contribuição inédita desse trabalho é a comparação experimental dos efeitos das derivações com o duodeno e o jejuno com alça exclusiva de 15 cm sobre a reparação das lesões hepatocelulares e a constatação da ampliação das vantagens da DBJ, o que pode subsidiar a seleção ante a tomada de decisão clínica. Embora o REB esteja presente nas duas derivações, a quantidade de alimentos e a organização do material refluído para a via biliar após DBD, verificadas durante a eutanásia dos animais, foram aparentemente maiores, assim como a incidência de contaminação biliar, que acometeu todos os animais. É provável que a facilidade para entrada de alimentos na via biliar derivada para o duodeno propicie arrolhamentos transitórios com aumento da pressão intrabiliar. Esse fenômeno pode ser suficiente para manter as bilirrubinas totais e a fosfatase alcalina em níveis mais elevados. A perpetuação de colestase retarda a reparação das lesões histológicas e a recuperação metabólica das mitocôndrias. O advento da contaminação da via biliar e o processo inflamatório decorrentes podem contribuir para o aumento do número de células estreladas e, conseqüentemente, a regressão menos acentuada da esplenomegalia, sobretudo após DBD.

A quantificação do REB após ingestão do Fitato ^{99m}Tc realizada em nosso meio, confirma a ocorrência do fenômeno nas duas derivações biliares empregadas no presente estudo. A contagem da radiação correspondente às radiatividades emitidas pelo fígado e vias biliares expressas em porcentagem da radiatividade total emitidas pelo tubo digestivo e fígado/vias biliares aos 15 minutos, foi em média de 5,55 para o grupo DBD e 0,34 para o DBJ ($p=0,13$), enquanto após 4 horas foi de 0,34 para DBD e 1,53 para DBJ ($p=0,81$) (FIGURA 43) (DUTRA et al., 2007). Embora não haja diferença significativa entre os valores registrados, a perspectiva é que no grupo DBD, a eliminação de grande parte do material

refluído faz-se de forma rápida, enquanto após DBJ a quantidade de material refluído é menor, mas a eliminação também é mais lenta em função da estase.

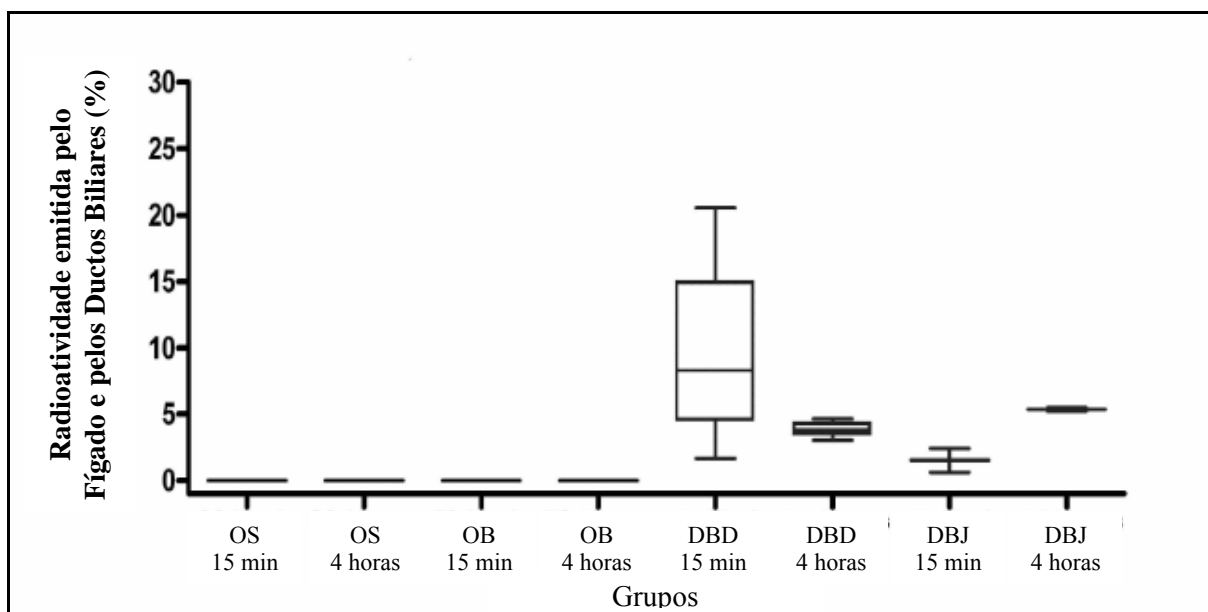


FIGURA 43 - Radiatividades emitida pelo fígado e vias biliares expressas em porcentagem da radioatividade total emitida pelo tubo digestivo do fígado/vias biliares aos 15 minutos e após 4 horas de ingestão Fitato ^{99m}Tc , em ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). **Fonte:** Dutra et al. (2007).

O REB e a contaminação bacteriana não afetaram de forma significativa a melhora da colestase, a recuperação do padrão energético do fígado e do estresse oxidativo. Todavia, os efeitos adversos da derivação biliar, mesmo na presença de anastomose ampla e pèrvea, promoveram o aumento da inflamação na zona 1 dos lóbulos hepáticos, o aumento das células estreladas e a manutenção do aumento da massa esplênica, indicativo de hipertensão portal.

O fígado, ante os diferentes fatores lesivos, apresenta uma seqüência de respostas bem estabelecidas. A obstrução biliar induz à inflamação e ao estresse oxidativo, os quais ativam as células estreladas e estas, por sua vez, secretam colágeno propiciando o aparecimento da fibrose e da cirrose (APTE, 2002; IREDALE, 2003). A remoção do agente lesivo por meio da desobstrução biliar pode remodelar o colágeno com regressão da fibrose e o restabelecimento quase completo da arquitetura hepática (DUTRA et al., 2007; HAMMEL et al., 2001; IREDALE, 2003; SANTOS et al., 1998; ZIMMERMAN et al., 1992). A resolução completa da cirrose ainda não foi suficientemente documentada (IREDALE, 2003).

Há evidências experimentais que estabelecem a conexão entre lesão hepática, inflamação, estresse oxidativo, ativação das células estreladas, fibrose, ruptura da arquitetura hepática e disfunção hepatocelular (APTE, 2002; FRIEDMAN, 1993, 2000).

As células estreladas situam-se entre os hepatócitos e os sinusóides no espaço de Disse e tem a atribuição de manter a normalidade da matriz extracelular do fígado por meio do balanço regulador entre síntese e degradação protéica. Durante a lesão hepática, a ativação das células estreladas ocorre por meio de dois mecanismos (FRIEDMAN, 2000; GEERTS, 2001). No início da ativação há perda dos depósitos de vitamina A com aumento dos receptores de superfície para fatores de crescimento e citocinas. Na seqüência, há perpetuação da ativação e a célula adquire a forma de miofibroblasto, com aumento da sua proliferação e da síntese de matriz extracelular. O resultado da modificação do padrão morfológico e funcional das células estreladas é o desequilíbrio entre a síntese e degradação das proteínas com depósito de colágeno na matriz extracelular.

As células estreladas, quando adquirem a forma de miofibroblastos, passam a apresentar proteínas contráteis como a actina do músculo liso e adquire sensibilidade à endotelina. A endotelina é uma substância com alto poder vasoativo, está aumentada na fibrose hepática e promove a contração das células estreladas. Paralelamente, ante a lesão hepática, o óxido nítrico que é antagonista da endotelina tem a sua produção rebaixada a partir do endotélio. O resultado é a preponderância do estímulo à contração das células estreladas e o aumento da resistência dos sinusóides hepáticos, o que induz à hipertensão portal (IREDALE, 2003; ROCKEY, 2001).

Nas áreas lesadas do fígado, as células inflamatórias produzem citocinas como o TNF α que estimulam as células estreladas e a interleucina 10 que modulam a sua atividade (THOMPSON, 1998; WANG et al., 1998). Além das células estreladas, os macrófagos e as células de Kupffer estão envolvidos no processo de fibrose mediante secreção de metaloproteinases que degradam colágeno e outras moléculas da matriz intersticial (BENYON ; ARTHUR, 2001). Na reparação da fibrose, há aumento da atividade das colagenases e modificações na matriz intersticial que levam à apoptose das células estreladas (IMURO et al., 2003; WRIGHT et al., 2001).

Outro fator que pode estar relacionado com a ativação ou a perpetuação da ativação das células estreladas é o estresse oxidativo que se desenvolve após a obstrução biliar. O estresse oxidativo em geral é produto da geração de radicais livres com decréscimo das defesas antioxidantes. Esses eventos levam à deterioração da função celular com redução da adenosina trifosfato e peroxidação da membrana lipídica, cuja associação com a fibrose hepática é bem conhecida (POLI, 2000). O malondialdeído é um produto da peroxidação lipídica, altamente reativo e que participa da fibrogênese (MAHER; TZAGARAKIS; GIMENEZ, 1994). Nesse estudo o MDA apresentava aumento na vigência da obstrução biliar

e sua redução, após as derivações biliares, coincidiu com a reabsorção da fibrose, indicando que o estresse oxidativo pode ter papel mais relevante na gênese da fibrose do que o estímulo inflamatório. A definição da participação do estresse oxidativo e da atividade necroinflamatória na ativação ou na perpetuação das modificações anatômicas e funcionais das células estreladas tem importância na medida em que pode nortear terapêuticas mais específicas.

No presente estudo, apesar da remoção eficiente do fator lesivo para o fígado por meio das derivações bileodigestivas com normalização do malondialdeído e da redução significativa da massa estimada da fibrose, a esperada apoptose e redução das células estreladas não ocorreu. De forma contrária, houve aumento do seu número, tendo sido significativo após a DBD. Assim, pode-se inferir que os efeitos adversos das derivações biliares, tais como, o refluxo enterobiliar e a contaminação bacteriana das vias biliares que ampliam o processo inflamatório, principalmente na zona 1 dos lóbulos hepáticos, mantém o estímulo para proliferação das células estreladas. Estas, por sua vez, parecem ter deixado de exibir o fenótipo para a fibrogênese, mas manteve aquele relacionado à hipertensão portal.

Em síntese, o modelo de obstrução biliar empregado nesse estudo foi eficiente na obtenção de alterações hepáticas e sistêmicas compatíveis com a fibrose biliar secundária e hipertensão portal. As duas modalidades de derivação biliar empregadas repararam de forma satisfatória as alterações bioquímicas decorrentes da colestase, do metabolismo energético e do estresse oxidativo. Por outro lado, essas melhoras substanciais não foram suficientes para reduzir o número de células estreladas e a esplenomegalia. A DBJ com alça exclusiva de 15 cm apresentou algumas vantagens em relação à DBD relativas à reparação da colestase, da hipoalbuminemia e da respiração mitocondrial. As duas modalidades de tratamento induziram ao refluxo enterobiliar, à contaminação biliar e à exacerbação da inflamação, sobretudo na zona 1 do lóbulo hepático, o que indica a necessidade de analisar ou propor alternativas que possam minimizar a exposição da via biliar ao conteúdo entérico e à estase e, conseqüentemente, a manutenção da hipertensão portal.

5. CONCLUSÕES

Considerando as condições experimentais empregadas e os resultados obtidos nesse estudo, conclui-se que:

- As duas modalidades de derivação biliar empregadas melhoram as alterações colestáticas e metabólicas do parênquima hepático, presentes na fibrose biliar secundária, mas a DBJ tem melhor desempenho na reparação dessas alterações.
- Os tratamentos têm efeitos semelhantes na recuperação das lesões histológicas do fígado, decorrentes da colestase, mas não são suficientes para reparar, completamente, a proliferação ductal e a fibrose.
- As duas modalidades de tratamento, mas de forma mais proeminente após DBD, induzem ao refluxo enterobiliar, à contaminação biliar e à exacerbação da inflamação hepática com aumento das células estreladas, o que contribui para a manutenção da hipertensão portal.
- Os resultados apontam para a necessidade de analisar ou propor alternativas que possam minimizar a exposição da via biliar ao conteúdo entérico e à estase.

6 . R E F E R Ê N C I A S B I B L I O G R Á F I C A S

ABDEL-AZIZ, G.; LEBEAU, G.; RESCAN, P. Y.; CLÉMENT, B.; RISSEL, M.; DEUGNIER, Y.; CAMPION, J. P.; GUIZILLO, A. Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in the rat. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia, v. 137, p. 1333-42, 1990.

ADSON, M. A.; WYCHULIS, A. R. Portal hipertension in secondary biliary cirrhosis. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 96, p. 604-12, 1968.

AFROUDAKIS, A.; KAPLOWITZ, N. Liver histopathology in chronic common bile duct stenosis due to chronic alcoholic pancreatitis. **Hepatology**, Baltimore, v. 1, p. 65-72, 1981.

ALTMAN, R. P.; CHANDRA, R.; LILLY, J. R. Ongoing cirrhosis after successful porticoenterostomy in infants with biliary atresia. **J. Pediatr. Surg.**, Philadelphia, v. 10, p. 685-9, 1975.

ANDUS, T.; BAUER, J.; GEROK, W. Effects of cytokines on the liver. **Hepatology**, Baltimore, v. 13, p. 364-75, 1991.

APTE, M. Oxidative stress: Does it 'initiate' hepatic stellate cell activation or only 'perpetuate' the process? **J. Gastroenterol. Hepatol.**, Melbourne, v. 17, p. 1045-8, 2002.

ARONSON, D. C.; CHAMULEAU, R. A. F. M.; FREDERIKS, W. M.; GROOSZEN, H. G.; HEIJMAS, H. S. A.; JAMES, J. Reversibility of cholestatic changes following experimental common bile duct obstruction: Fact or fantasy? **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 18, p. 85-95, 1993.

BEMELMANS, M. H.; GOUMA, D. J.; GREVE, J. W.; BUURMAN, W. A. Cytokines TNF and IL-6 in biliary obstruction in mice. **Hepatology**, Baltimore, v. 15, p. 1132-6, 1992.

BEMELMANS, M. H.; GREVE, J. W.; GOUMA, D. J.; BUURMAN, W. A. Increased concentrations of tumor necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors in biliary obstruction in mice; soluble TNF receptors as prognostic factors for mortality. **Gut**, London, v. 38, p. 447-53, 1996.

BENYON, R. C.; ARTHUR, M. J. P. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 21, p. 373-84, 2001.

BISMUTH, H.; FRANCO, D.; CORLETTE, M. B.; HEPP, J. Long term results of Roux-en-Y hepaticojejunostomy. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 146, n. 2, p. 161-7, 1978.

BLUMGART, L. H. Biliary tract obstruction: new approaches to old problems. **Am. J. Surg.**, New York, v. 135, p. 19-31, 1978.

BRASIL. **Lei no 8080/90, de 19 de setembro de 1990.** Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Brasília, DF, 20 de set. 1990a. Disponível em: http://www.cff.org.br/legis/leis%5Clei_8080_90.html. Acesso em: 23 de out. 2007.

BRASIL. **Lei no 8142/90, de 28 de dezembro de 1990.** Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Brasília, DF, 28 de dez. 1990b. www.pessoalsus.inf.br/Normas/Lei%208142_90.htm. Acesso em: 23 de out. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 399 de 22 de fevereiro de 2006. Divulga o Pacto pela Saúde 2006 – consolidação do SUS e aprova as diretrizes operacionais do referido Pacto. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 de fev. 2006. Seção 1. Disponível em <http://www.conasems.org.br/intraconasems/arquivo/legislacao/DO1_2006_02_23.pdf>. Acesso em: 10 de out. 2006.

BUNTON, G. L.; CAMERON, R. Regeneration of liver biliary cirrhosis. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, New York, v. 111, p. 412-21, 1963.

CALDWELL-KENKEL, J. C.; THURMAN, R. G.; LEMASTERS, J. J. Selective loss of nonparenchymal cell viability after ischemic stroke of rat livers. **Transplantation**, Baltimore, v. 45, n. 4, p. 834-7, 1988.

CAMERON, G. R.; HASAN, S. M. Disturbances of structure and function in the liver as the result of biliary obstruction. **J. Pathol. Bacteriol.**, London, v. 75, p. 333-49, 1958.

CAMERON, G. R.; OAKLEY, C. L. Ligation of the common bile duct. **J. Pathol.**, London, v. 35, p. 769-98, 1932.

CAMERON, G. R.; PRASAD, L. B. Recovery from biliary obstruction after spontaneous restoration of the obstructed common bile-duct. **J. Pathol. Bacteriol.**, London, v. 80, p. 127-36, 1960.

CARVALHO, F. R.; SANTOS, J. S.; ELIAS JUNIOR, J.; KEMP, R.; SANKARANKUTTY, A. K.; FUKUMORI, O. Y.; SOUZA, M. C. L. A.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O. The influence of treatment access regulation and technological resources on the mortality profile of acute biliary pancreatitis. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, 2007. No prelo.

CASTRO E SILVA JUNIOR, O.; MAZZETTO, S. A.; SANTOS, J. S.; CENEVIVA, R.; ZUCOLOTO, S. Experimental induction of secondary cirrhosis in rats. A new surgical procedure. **Res. Surg.**, Valencia, v. 7, p. 42-4, 1995.

CHANCE, B.; WILLIAMS, G. R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 217, p. 409-27, 1956.

CHENG, G.; HOCKING, M. P.; VOGEL, S. B.; SNINSKY, C. A. The effect of Roux en Y diversion on gastric and Roux limb emptying in rodent model. **Am. J. Surg.**, New York, v. 169, p. 618-21, 1995.

CHUANG, J. H.; LEE, S. Y.; SHIEH, C. S.; CHEN, W. J.; CHANG, N. K. Reappraisal of the role of bilioenteric conduit in the pathogenesis of postoperative cholangitis. **Pediatr. Surg. Int.**, Berlin, v. 16, n. 1-2, p. 29-34, 2000.

CHUANG, J. H.; LEE, S. Y.; CHEN, W. J.; HSIEH, C. S.; CHANG, N. K.; LO, S. K. Changes in bacterial concentration in the liver correlate with that in the hepaticojejunostomy

after bile duct reconstruction: Implication in the pathogenesis of postoperative cholangitis. **World J. Surg.**, New York, v. 25, p. 1512-8, 2001.

CLÉMENT, B.; LORÉAL, O.; LEVAVASSEUR, F.; GUILLOUZO, A. New challenges in hepatic fibrosis. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 18, p. 1-4, 1993.

CORTES, A.; SAUVANET, A.; BERT, F.; JANNY, S.; SOCKEEL, P.; KIANMANESH, R.; PONSOT, P.; RUSZNIEWSKI, P.; BELGHITI, J. Effect of bile contamination on immediate outcomes after pancreaticoduodenectomy for tumor. **J. Am. Coll. Surg.**, Chicago, v. 202, n. 1, p. 93-9, 2006.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T.; ROBBINS, S. L. **Robbins pathologic basis of disease**. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 1999. 1425 p.

CYWES, R.; BRANDAN, J.; MULLEN, M.; STRATIS, M. S.; GREIG, P. D.; LEVY, G. A.; HARVEY, P. R.; STRASBERG, S. M. Prediction of outcome of transplantation in man by platelet adherence in donor liver allografts. **Transplantation**, Baltimore, v. 56, n. 2, p. 316-23, 1993.

DAWSON, J. L. The incidence of postoperative renal failure in obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, Chichester, v. 52, p. 663-5, 1965.

DIAMOND, T.; DOLAN, S.; THOMPSON, R. L. E.; ROWLANDS, B. J. Development and reversal of endotoxemia and endotoxin-related death in obstructive jaundice. **Surgery**, Saint Louis, v. 108, p. 370-5, 1990.

DIXON, J. M.; ARMSTRONG, C. P.; DUFFY, S. W.; DAVIES, G. C. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice: a review of 373 patients. **Gut**, London, v. 24, n. 9, p. 845-52, 1983.

DOUMAS, B. T.; WATSON, W. A.; BIGGS, H. G. Albumin standart and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v. 31, p. 87-96, 1971.

DUCROTTE, P.; PEILLON, C.; GUILLEMOT, F.; TESTART, J.; DENIS, P. Could recurrent cholangitis after Roux-em-Y hepaticojejunostomy be explained by motor intestinal anomalies? A manometric study. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 86, p. 1255-8, 1991.

DUTRA, R. A.; SANTOS, J. S.; ARAÚJO, W. M.; SIMÕES, V.; BECKER, A. N. P. P.; SERAFIM, L. N. Evaluation of hepatobiliary excretion and enterobiliary reflux in rats with biliary obstruction submitted to bilioduodenal or biliojejunal anastomosis. **Dig. Dis. Sci.**, New York, 2007. No prelo.

ESCUDERO-FABRE, A.; ESCALLON, A. JR.; SACK, J.; HALPERN, N. B.; ALDRETE, J. S. Choledochoduodenostomy – Analysis of 71 cases followed for 5 to 15 years. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 213, p. 635-44, 1991.

FAN, S. T.; LAI, E. C. S.; MOK, F. P. T.; LO, C. M.; ZHENG, S. S.; WONG, J. Early treatment of acute biliary pancreatitis by endoscopic papillotomy. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 328, p. 228-32, 1993.

FARBER, J. L.; CHIEN, K. R.; MITTNACHT, S. JR. The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia, v. 102, p. 271-81, 1981.

FAZAN, V. P. S.; SALGADO, H. C.; BARREIRA, A. A. Descriptive and quantitative light and electron microscopy study of the aortic depressor nerve in normotensive rats. **Hypertension**, Dallas, v. 30, p. 693-8, 1997.

FELDMANN, G. Critical analysis of the methods used to morphologically quantify hepatic fibrosis. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 22, p. 49-54, 1995.

FERREIRA, M. A.; SANTOS, J. S.; DUTRA, R. A.; SALGADO JUNIOR, W.; KEMP, R.; DOMICIANO, C.; RAMALHO, L. N. Z.; SANKARANKUTTY, A. K.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O. Bilioduodenal anastomosis in rats with extra-hepatic biliary obstruction followed by lesions ischemia and reperfusion-induced. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, 2007. No prelo.

FRANCO, D.; GIGOU, M.; SZEKELY, A. M.; BISMUTH, H. Portal hypertension after bile duct obstruction: effect of bile diversion on portal pressure in the rat. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 114, p. 1064-7, 1979.

FRIEDMAN, S. L.; ARTHUR, M. J. P. Reversing hepatic fibrosis. **Sci. Med.**, Narberth, v. 8, p. 194-205, 2002.

FRIEDMAN, S. L. The cellular basis of hepatic fibrosis: mechanisms and treatment strategies. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 328, p. 1828-35, 1993.

FRIEDMAN, S. L. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 275, p. 2247-50, 2000.

GALL, J. A. M.; BHATHAL, O. S. A quantitative analysis of the liver following ligation of the common bile duct. **Liver**, Copenhagen, v. 10, p. 116-25, 1990.

GAUTIER, M.; VALAYER, J.; ODIEVRE, M.; ALAGILLE, D. Histological liver evaluation 5 years after surgery for extrahepatic biliary atresia: a study of 20 cases. **J. Pediatr. Surg.**, Philadelphia, v. 19, p. 263-8, 1984.

GEERTS, A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 21, p. 311-5, 2001.

GERBES, A. L.; GÜLBERG, V.; SÄGESSER, H.; REICHEN, J. Circulating endothelin (ET)-1 and ET-3 in experimental cirrhosis: relation to renal sodium handling but not to renal extraction of ET nor to liver function. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, p. 164A, 1995.

GOLDMAN, L. D.; STEER, M. L.; SILEN, W. S. Recurrent cholangitis after biliary surgery. **Am. J. Surg.**, New York, v. 145, p. 450-4, 1983.

GREVE, J. W.; MAESSEN, J. G.; TIEBOSCH, T.; BUURMAN, W. A.; GOUMA, D. J. Prevention of postoperative complication in jaundiced rats. Internal biliary drainage versus oral lactulose. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 212, n. 2, p. 221-7, 1990.

GROSS, J. B.; REICHEN, J.; ZELTNER, T.; ZIMMERMANN, A. The evolution of changes in quantitative liver function tests in rat model of cirrhosis. **Hepatology**, Baltimore, v. 7, p. 457-63, 1987.

HAMMARSTROM, L. E.; ANDERSON, R.; STRIDBECK, H.; IHSE, I. Influence of bile duct stones on patients features and effect of endoscopic sphincterotomy on early outcome of edematous gallstone pancreatitis. **World J. Surg.**, New York, v. 23, p. 12-7, 1999.

HAMMEL, P.; COUVELARD, A.; O'TOOLE, D.; RATOUIS, A.; SAUVANET, A.; FLEJOU, J. F.; DEGOTT, C.; BELGHITI, J.; BERNADES, P.; VALLA, D.; RUSZNIEWSKI, P.; LEVY, P. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 344, n. 6, p. 418-23, 2001.

HANAU, L. H.; STEIGBIGEL, N. H. Acute (ascending) Cholangitis. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 14, n. 3, p. 521-46, 2000.

HARTLEB, M.; MOREAU, R.; CAILMAIL, S.; GAUDIN, C.; LEBREC, D. Vascular hyporesponsiveness to endothelin 1 in rats with cirrhosis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 107, p. 1201-3, 1994.

HASHIMOTO, N.; OHYANAGI, H. Hepatobiliary Scintigraphy after biliary reconstruction – A comparative study on Roux-Y and ESCD. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 47, p. 1210-2, 2000.

HASHIMOTO, N.; KOTOURA, Y.; OHYANAGI, H. Hepatobiliary scintigraphy after biliary reconstruction Roux Y and RY-dj. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 52, p. 200-2, 2005.

HENRIKSEN, J. H.; LASSEN, N. A. Pressure profile in liver sinusoides. A model of localization of sinusoidal resistance in the normal and cirrhotic liver. **Liver**, Copenhagen, v. 8, p. 88-94, 1988.

HENRY, J. R.; CHIAMORI, N.; GOLUBE, O. G.; BERKMAM, S. Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and latic acid dehydrogenase. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 34, p. 381-98, 1960.

HODUL, P.; CREECH, S.; PICKLEMAN, J.; ARANHA, G. V. The effect of preoperative biliary stenting on postoperative complications after pancreaticoduodenectomy. **Am. J. Surg.**, New York, v. 186, n. 5, p. 420-5, 2003.

HOLLANDER, M.; WOLFE, D. A. **Nonparametric statistical methods**. New York: John Wiley, 1973. 503 p.

HUANG, T.; BASS, J. A.; WILLIAMS, R. D. The significance of biliar cholangitis. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 98, p. 629-32, 1969.

HUNT, D. R. Changes in liver blood flow with development of biliary obstruction in the rat. **Aust. N. Z. J. Surg.**, Carlton, v. 49, n. 6, p. 733-7, 1979.

HUNT, D. R. The identification of risk factors and their application on the management of obstructive jaundice. **Aust. N. Z. J. Surg.**, Carlton, v. 50, n. 5, p. 476-80, 1980.

HUNT, D. R.; ALLISON, M. E. M.; PRENTICE, C. R. M.; BLUMGART, L. H. Endotoxemia, disturbance of coagulation and obstructive jaundice. **Am. J. Surg.**, New York, v. 144, n.3, p. 325-9, 1982.

IMURO, Y.; NISHIO, T.; MORIMOTO, T.; NITTA, T.; STEFANOVIC, B.; CHOI, S. K.; BRENNER, D. A.; YAMAOKA, Y. Delivery of matrix metalloproteinase-1 attenuates established liver fibrosis in the rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 124, n. 2, p. 445-58, 2003.

IREDALE, J. P. Cirrhosis: new research provides a basis for rational and targeted treatments. **BMJ**, London, v. 327, p. 143-7, 2003.

JOHNSTONE, J. M. S.; LEE, E. G. A quantitative assessment of the structural changes in the rat's liver following obstruction of the common bile duct. **Br. J. Exp. Pathol.**, London, v. 57, p. 85-94, 1976.

KAPLAN, R. S.; PEDERSEN, P. L. Characterization of phosphate efflux pathways in rat liver mitochondrial. **Biochem. J.**, London, v. 212, p. 279-88, 1983.

KAWADA, N.; TRAN, T. T.; KLEIN, H.; DECKER, K. The Contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus. **Eur. J. Biochem.**, Berlin, v. 213, p. 815-23, 1993.

KIMMINGS, A. N.; VAN DEVENTER, S. J.; OBERTOP, H.; RAUWS, E. A. J.; GOUMA, D. J. Inflammatory and immunologic effects of obstructive jaundice: Pathogenesis and treatment. **J. Am. Coll. Surg.**, Chicago, v. 181, n. 6, p. 567-81, 1995.

KLAUS, A.; WEISS, H.; KRECZY, A.; EIGENTLER, A.; NEHER, C.; MARGREITER, R.; PERNTHALER, H. A new biliodigestive anastomosis technique to prevent reflux and stasis. **Am. J. Surg.**, New York, v. 182, p. 52-7, 2001.

KLAUS, A.; HINDER, R. A.; NGUYEN, J. H. H.; NELSON, K. L. Small bowel transit and gastric emptying after biliodigestive anastomosis using the uncut jejunal loop. **Am. J. Surg.**, New York, v. 186, p. 747-51, 2003.

KOCK-WESER, D.; MEYER, K. A.; YESINICK, C.; POPPER, H. Influence of the site of experimental biliary obstruction upon functional and morphologic hepatic injury. **Lab. Invest.**, New York, v. 1, p. 324-31, 1952.

KONTOURAS, J.; BILLING, B. H.; SCHEUER, P. J. Prolonged bile duct obstruction: A new experimental model for cirrhosis in the rat. **Br. J. Exp. Pathol.**, London, v. 65, p. 305-11, 1984.

KRÄHENBÜHL, S.; STUCKI, J.; REICHEN, J. Reduced activity of the electron transport chain in liver mitochondria isolated from rats with secondary biliary cirrhosis. **Hepatology**, Baltimore, v. 15, p. 1160-6, 1992.

KRÄHENBÜHL, S.; TALOS, C.; REICHEN, J. Mechanisms of impaired hepatic fatty acid metabolism in rats long-term bile duct ligation. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, p. 1272-81, 1994.

KRÄHENBÜHL, L.; SCHAFNER, M.; KRÄHENBÜHL, S. Reversibility of hepatic mitochondrial damage in rats with long-term cholestasis. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 28, p. 1000-7, 1998.

KRÄHENBÜHL, S.; TALOS, C.; FISCHER, S.; REICHEN, J. Toxicity of bile acids on the electron transport chain of isolated rat liver mitochondria. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, p. 471-9, 1994.

KRÄHENBÜHL, S.; TALOS, C.; LAUTERBURG, B. H.; REICHEN, J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, p. 607-12, 1995.

KRÄHENBÜHL, L.; TALOS, C.; REICHEN, J.; KRÄHENBÜHL, S. Progressive decrease in tissue glycogen content in rats with long-term cholestasis. **Hepatology**, Baltimore, v. 24, p. 902-7, 1996.

KURZEN, P.; ZIMMERMANN, H.; MARTI, U.; REICHEN, J. Decreased endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression in hepatocytes of secondary cirrhosis in the rat. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 25, p. 116, 1995.

LEEVEY, C. M.; DVORSCHACK, C. K.; GNASSI, A. M. The liver in extrahepatic biliary obstruction. **Am. J. Med. Sci.**, Philadelphia, v. 227, p. 272-8, 1954.

LESUR, G.; LEVY, P.; FLEJOU, J. F.; BELGHITI, J.; FEKETE, F.; BERNADES, P. Factors predictive of liver histopathological appearance in chronic alcoholic pancreatitis with common bile duct stenosis and increased serum alkaline phosphatase. **Hepatology**, Baltimore, v. 18, p. 1078-81, 1993.

LITTELL, R. C.; MILLIKEN, G. A.; SROUP, W. W.; WOLFINGER, R. D. **SAS system for mixed models**. Cary: SAS Institute, 1996. 633 p.

LONGMIRE, W. P.; TOMPKINS, R. K. Lesions of a segmental a. ducts. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 182, p. 479-95, 1975.

LOPES, S. L. B.; SANTOS, J. S.; SCARPELINI, S. The implementation of the medical regulation office and mobile emergency attendance system and its impact on the gravity profile of non-traumatic afflictions treated in a University Hospital: a research study. **BMC Health Serv. Res.**, London, v. 7, n. 1, p. 173, 2007.

MADDEN, J. L.; GRUWEZ, J. A.; TAN, P. Y. Obstructive (surgical) jaundice: a analysis of 140 consecutive cases and a consideration of choledochoduodenostomy in its treatment. **Am. J. Surg.**, New York, v. 109, p. 89-99, 1965.

MADDEN, J. L.; SHUN, J. Y.; KANDALAFT, S.; PAREKH, M. Choledochoduodenostomy – An unjustly maligned surgical procedure? **Am. J. Surg.**, New York, v. 119, p. 45-54, 1970.

MAHER, J. J.; TZAGARAKIS, C.; GIMENEZ, A. Malondialdehyde stimulates collagen production by hepatic lipocytes only upon activation in primary culture. **Alcohol Alcohol.**, Oxford, v. 29, p. 605-10, 1994.

MATHIE, R. T.; NAGORNEY, D. M.; LEWIS, M. H.; BLUMGART, L. H. Hepatic hemodynamics after chronic obstruction of biliary tract in dog. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 166, n. 2, p. 125-30, 1988.

MATTHEWS, J. B.; BAER, H. U.; SCHWEIZER, W. P. Recurrent cholangitis with and without anastomotic stricture after biliary-enteric bypass. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 128, p. 269-72, 1993.

MEDEIROS, M. V. M. J. P.; FREITAS, L. A. R.; ANDRADE, Z. A. Difference in hepatic pathology resulting from bile duct obstruction in young and old rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 21, p. 75-83, 1988.

MIEDEMA, B. W.; KELLY, K. A.; CAMILLERI, M.; HANSON, R. B.; ZINSMEISTER, A. R.; O'CONNOR, M. K.; BROWN, M. L. Human gastric and jejunal transit and motility after Roux gastrojejunostomy. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 103, n. 4, p. 1133-43, 1992.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 2000. 684 p.

MORACA, R. J.; LEE, F. T.; RYAN, J. A. JR.; TRAVERSO, L. W. Long-term biliary function after reconstruction of major bile duct injuries with hepaticoduodenostomy or hepaticojejunostomy. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 137, n. 8, p. 889-93, 2002.

MORGENSTERN, L.; SHORE, J. M. Selection of an optimal procedure for decompression of the obstructed common bile duct. Experimental and clinical observations. **Am. J. Surg.**, New York, v. 119, p. 38-44, 1970.

MUSGROVE, J. E.; GRINDLAY, J. H.; KARLSON, A. G. Intestinal-biliary reflux after anastomosis of common duct to duodenum or jejunum. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 64, p. 579-89, 1952.

MUSTAFA, M. G.; COWGER, M. L.; KING, T. E. Effects of bilirubin on mitochondrial reactions. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 244, p. 6403-14, 1969.

NAGAI, T.; YAMAKAWA, T. Experimental model with bilioenteric anastomosis in rats. Technique and significance. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 39, p. 309-13, 1992.

NAKEEB, A.; PITT, H. A. The role of preoperative biliary decompression in obstructive jaundice. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 42, n. 4, p. 332-7, 1995.

NEOPTOLEMOS, J. P.; LONDON, N. J.; JAMES, D.; CARR-LOCKE, D. L.; BAILEY, I. A.; FOSSARD, D. P. Controlled trial of urgent endoscopic retrograde cholangiopancreatography endoscopic sphincterotomy versus conservative treatment for acute pancreatitis due to gallstones. **Lancet**, London, v. 2, p. 979-83, 1988a.

NEOPTOLEMOS, J. P.; CARR-LOCKE, D. L.; LONDON, L.; BAILEY, I.; FOSSARD, D. P. ERCP findings and the role of endoscopic sphincterotomy in acute gallstone pancreatitis, **Br. J. Surg.**, Chichester, v. 75, p. 954-60, 1988b.

ORIA, A.; CIMMINO, D.; OCAMPO, C.; SILVA, W.; KOHAN, G.; ZANDALAZINI, H.; SZELAGOWSKI, C.; CHIAPPETTA, L. Early endoscopic intervention versus early conservative management in patients with acute gallstone pancreatitis and biliopancreatic obstruction. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 245, n. 1, p. 10-7, 2007.

OZAWA, K. The role of liver mitochondrial compensatory. In: _____. **Liver surgery approached through the mitochondria**. Tokyo: Medical Tribune, 1992. p. 27-55.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2. ed. São Paulo: Pioneira Thomsom Learning, 2004. 506 p.

PANDOLFI JUNIOR, H.; SANTOS, J. S.; ZUCOLOTO, S.; RAMALHO, L. N. Z. Evolução da fibrose biliar secundária em ratos tratados mediante derivação bilioduodenal ou biliojejunal com alça de Roux medindo 5, 10 e 15 cm. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 16, p. 47-51, 2001. Suplemento 1.

PANIS, Y.; FAGNIEZ, P. L.; BRISSET, D.; LACAINE, F.; LEVARD, H.; HAY, J. M. Long term results of choledochoduodenostomy versus choledochojejunostomy for choledocholithiasis. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 177, p. 34-7, 1993.

PEDERSEN, P. L.; GREENAWALT, J. W.; REYNAFARJE, B.; HULLIHEN, J.; DECKER, G. L.; SOPER, J. W.; BUSTAMENTE, E. Preparation and characterization of mitochondria and submitochondrial particles of rat liver and liver-derived tissues. **Methods Cell Biol.**, New York, v. 20, p. 411-81, 1978.

PLAISIER, P. W.; VAN DER HULL, R. L.; LAMÉRIS, J. S.; OEI, H. Y.; TERPSTRA, O. T. Routine testing of liver function after biliary-enteric anastomosis has no clinical relevance. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 48, p. 622-4, 2001.

POLI, G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. **Mol. Aspects Med.**, Oxford, v. 21, p. 49-98, 2000.

RAMADORI, G. Pathogenesis of liver fibrosis. Synthesis of collagen and non-collagen proteins in cell culture and in vivo. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 30, p. 17-20, 1992. Supplement 1.

RAPER, S. E.; BARKER, M. E.; JONES, A. L.; WAY, L. W. Anatomic correlates of bacterial cholangiovenous reflux. **Surgery**, Saint Louis, v. 105, p. 352-9, 1989.

REICHEN, J. Etiology and pathophysiology of portal hypertension. **Z. Gastroenterol.**, München, v. 26, p. 3-7, 1988. Supplement 2.

REICHEN, J.; EGGER, B.; OHARA, N.; ZELTNER, TB.; ZYSSET, T.; ZIMMERMANN, A. Determinants of hepatic function in liver cirrhosis in the rat. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor, v. 82, p. 2069-76, 1988.

RICHARD, V.; HOGIE, M.; CLOZEL, M.; LOFFLER, M. B.; THUILLEZ, C. In vivo evidence of an endothelin-induced vasopressor tone after inhibition of nitric oxide synthesis in rats. **Circulation**, Dallas, v. 91, p. 77, 1995.

ROCKEY, D. C. Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 21, p. 337-49, 2001.

ROSELINO, J. E.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O.; CENEVIVA, R. Lack of control of liver gluconeogenesis in cholestatic rats with reduced portal blood flow. **Hepatology**, Baltimore, v. 16, p. 1055-60, 1992.

ROY, A. V. Rapid method for determining alkaline phosphatase activity in serum with thymolphthalein monophosphatase. **Clin. Chem.**, Washington, v. 16, p. 431-6, 1970.

SAKODA, K.; ATIK, M. Influence of common bile duct ligation on hepatic blood flow. **Am. Surg.**, Atlanta, v. 36, p. 731-6, 1970.

SALEH, M. M.; NØRREGAARD, P.; JØRGENSEN, H. L.; ANDERSEN, P. K.; MATZEN, P. Preoperative endoscopic stent placement before pancreaticoduodenectomy: a meta-analysis of the effect on morbidity and mortality. **Gastrointest. Endosc.**, Saint Louis, v. 56, n. 4, p. 529-34, 2002.

SANTOS, J. S. **Evolução da cirrose biliar secundária após derivação bílio-duodenal em ratos**. 1993. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1993.

SANTOS, J. S. **Evolução da cirrose biliar secundária em ratos: comparação entre as derivações bílio-duodenal e bílio-jejunal**. 1997. 88 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1997.

SANTOS, J. S.; CENEVIVA, R.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O.; SALGADO JUNIOR, W.; GARCIA, A. M. C. Evolução da cirrose biliar secundária após derivação bilioduodenal em ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 11, p. 45-8, 1996.

SANTOS, J. S.; CENEVIVA, R.; ZUCOLOTO, S.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O.; GARCIA, A. M. C.; FERREIRA, M. A. Evolução da cirrose biliar secundária em ratos: comparação entre as derivações biliojejunal e bilioduodenal. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 11, p. 46-8, 1996.

SANTOS, J. S.; CENEVIVA, R.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O.; ZUCOLOTO, S.; CABRERA, A. M. E. Evolution of secondary bile cirrhosis by comparing the effects of bilioduodenal and biliojejunal shunts. **Digestion**, Basel, v. 59, p. 554, 1998.

SANTOS, J. S.; SILVA, M. B.; ZAMPAS, A. G.; SANKARANKUTTY, A. K.; CAMPOS, A. D.; CENEVIVA, R. Mutirões de colecistectomia por videolaparoscopia em regime de cirurgia ambulatorial. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 16, p. 52-6, 2001. Suplemento 1.

SANTOS, J. S.; SCARPELINI, S.; BRASILEIRO, S. L. L.; FERRAZ, C. A.; DALLORO, M. E. L. V.; SÁ, M. F. S. Avaliação do modelo de organização da unidade de emergência do HCFMRP-USP, adotado como referência, as políticas nacionais de atenção às urgências e de humanização. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 36, p. 498-515, 2003.

SANTOS, J. S.; SALGADO JUNIOR, W.; MÓDENA, J. L. P.; BRUNALDI, J. E.; CENEVIVA, R. Effect of preoperative endoscopic decompression on malignant biliary obstruction and postoperative infection. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 52, p. 45-7, 2005.

SANTOS, J. S.; KEMP, R.; SANKARANKUTTY, A. K.; SALGADO JUNIOR, W.; SOUZA, F. F.; TEIXEIRA, A. C.; ROSA, G. V.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O. Clinical and regulatory protocol for treatment of jaundice in adults and elderly: a support for health care network and regulatory system. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, 2007. No prelo.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT® user's guide**. Version 9. Cary: SAS Institute, 2002.

SCHALL, R. Estimation in generalized linear models with random effects. **Biometrika**, London, v. 78, n. 4, p. 719-727, 1991.

SCOBIE, B. A.; SUMMERSKILL, W. H. J. Hepatic cirrhosis secondary to obstruction of the biliary system. **Am. J. Dig. Dis.**, New York, v. 10, p. 135-46, 1965.

SEDGWICK, C. E.; POULANTZAS, J. K.; KUNE, G. A. Management of portal hypertension secondary to bile duct strictures. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 163, p. 949-53, 1966.

SEWNATH, M. E.; BIRJMOHUN, R. S.; RAUWS, E. A.; HUIBREGTSE, K.; OBERTOP, H.; GOUMA, D. J. The effect of preoperative biliary drainage on postoperative complications after pancreaticoduodenectomy. **J. Am. Coll. Surg.**, Chicago, v. 192, n. 6, p. 726-34, 2001.

SHIBAYAMA, Y.; NAKATA, K. Relation of sinusoidal stenoses following hepatocyte swelling to hepatic vascular resistance in experimental liver cirrhosis. **Liver**, Copenhagen, v. 9, p. 36-42, 1989.

SIMS, F. H.; HORN, C. Some observations on Powell's method for the determination of serum bilirubin. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 29, p. 412-7, 1958.

SLOTT, P. A.; LIU, M. H.; TAVOLONI, N. Originary pathern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 99, p. 466-77, 1990.

STEFANINI, P.; CARBONI, M.; PATRASSI, N.; BASOLI, A.; BERNARDINIS, G.; NEGRO, P. Roux- en-Y hepaticojejunostomy: a reappraisal of its indications and results. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 182, p. 2113-219, Feb. 1975.

STERR, M. L. Chronic biliary obstruction: hemodynamic effects of decompression. **Surg. Forum**, Chicago, v. 19, p. 342-4, 1968.

STRASBERG, S. M.; HERTL, M.; SOPER, N. J. An analysis of problem injury during laparoscopic cholecystectomy. **J. Am. Coll. Surg.**, Chicago, v. 180, n. 5, p. 638-9, 1995.

TOYOTA, N.; MIYAI, K.; HARDISON, W. G. M. Effect of biliary pressure versus high bile acid flux on the permeability of hepatocellular tight junction. **Lab. Invest.**, New York, v. 50, p. 536-42, 1984.

THOMPSON, K. C.; MALTBY, J.; FALLOWFIELD, J.; MCAULAY, M.; MILLWARD-SADLER, G. H.; SHERON, N. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation. **Hepatology**, Baltimore, v. 28, p. 1597-606, 1998.

TRAMS, E. G.; SYMEONIDIS, A. Morphologic and functional changes in the livers of rats after ligation or excision of the common bile duct. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia, v. 33, p. 13-25, 1957.

TSAI, Y. T.; LIN, H. C.; YANG, M. C. M.; LEE, F. Y.; HOU, M. C.; CHEN, L. S.; LEE, S. D. Plasma endothelin levels in patients with cirrhosis and their relationships to the severity of cirrhosis and renal function. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 23, p. 681-8, 1995.

UCHIYAMA, K.; ONISHI, H.; TANI, M.; KINOSHITA, H.; KAWAI, M.; UENO, M.; YAMAUE, H. Long-term prognosis after treatment of patients with choledocholithiasis. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 238, p. 97-102, 2003.

VAN BLITTERSWIJK, W. J.; VAN DER MEER, B. W.; HILKMAN, H. Quantitative contribution of cholesterol and the individual classes of phospholipids and their degree of fatty acyl (un) saturation to membrane fluidity measured by fluorescence polarization. **Biochemistry**, Washington, v. 26, p. 1746-56, 1987.

VANTRAPPEN, G, COREMANS, G, JANSSENS, J, MANTIDES, A, VANDEN BORRE, F. Inversion of the slow wave frequency gradient in symptomatic patients with Roux-en-Y anastomoses. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 101, p. 1282-8, 1991.

VERCESI, A. E.; BERNARDES, C. F.; HOFFMANN, M. E.; GADELHA, F. R.; DOCAMPO, R. Digitonin permeabilization does not affect mitochondrial function and allows the determination of the mitochondrial membrane potential of *Trypanosoma cruzi* in situ. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 266, p. 14431-4, 1991.

VOGT, D. P.; HERMANN, R. E. Choledochoduodenostomy, choledochojejunostomy or sphincteroplasty for biliary and pancreatic disease. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 193, p. 161-8, 1981.

WANG, S. C.; OHATA, M.; SCHRUM, L.; RIPPE, R. A.; TSUKAMOTO, H. Expression of interleukin-10 by in vitro and in vivo activated hepatic stellate cells. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 273, p. 302-8, 1998.

WAY, L. W.; BERNHOFT, R. A.; THOMAS, M. J. Biliary stricture. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 61, p. 963-72, 1981.

WRIGHT, M. C.; ISSA, R.; SMART, D. E.; TRIM, N.; MURRAY, G. I.; PRIMROSE, J. N.; ARTHUR, M. J.; IREDALE, J. P.; MANN, D. A. Gliotoxin stimulates the apoptosis of human

and rat hepatic stellate cells and enhances the resolution of liver fibrosis in rats. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 121, p. 685-98, 2001.

YEONG, M. L.; NICHOLSON, G. I.; LEE, S. P. Regression of biliary cirrhosis following choledochal cyst drainage. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 82, p. 332-5, 1982.

ZIMMERMANN, H.; FELLAY, M.; ZIMMERMANN, A. Hepatic stellate cells (Ito cells) but not collagen IV may partly be responsible for lower portal pressure after reversing secondary biliary cirrhosis in the rat. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 26, p. 158-66, 1997.

ZIMMERMANN, H.; REICHEN, J.; ZIMMERMANN, A.; SAGESSE, H.; THENISCH, B.; HOFLIN, F. Reversibility of secondary biliary fibrosis by biliodigestive anastomosis in the rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 103, p. 579-89, 1992.

ZIMMERMANN, H.; KURZEN, P.; KLOSSNER, W.; RENNER, E. L.; MARTI, U. Decreased constitutive hepatic nitric oxide synthase expression in secondary biliary fibrosis and its changes after Roux-en-Y choledocho-jejunostomy in the rat. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 25, p. 567-73, 1996.

7. APÊNDICE A

Tabela 7 - Valores séricos das bilirrubinas totais em mg/dl dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ) respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs DBD.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,20	7,60	10,70	0,30	10,60	0,40
2	0,30	7,50	9,80	0,50	6,00	0,30
3	0,30	7,70	9,50	0,30	9,50	0,40
4	0,30	9,00	9,90	0,30	11,40	0,40
5	0,30	8,90	6,20	0,40	6,80	0,30
6	0,40	10,00	10,60	0,40	8,10	0,30
7	0,30		8,40	0,40	10,80	0,20
8	0,10		8,30	0,40	14,00	0,30
9			9,40	0,60	8,60	0,15
10			10,70		10,00	0,40
Mediana	0,30	8,30	9,65	0,40	9,75	0,30
Média	0,28	8,45	9,35	0,40	9,58	0,32
Dp	0,088641	1,009455	1,400992	0,1	2,339421	0,088349

Tabela 8 - Valores séricos das bilirrubinas diretas em mg/dl dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB,OB1e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1vs DBD; OB2 vs DBJ.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,05	5,90	4,80	0,05	6,30	0,05
2	0,20	5,80	7,30	0,05	3,90	0,10
3	0,10	5,60	6,10	0,10	6,80	0,10
4	0,05	7,00	5,80	0,05	8,50	0,10
5	0,15	6,60	4,40	0,05	6,20	0,05
6	0,05	7,00	7,20	0,10	5,80	0,05
7	0,05		6,20	0,10	7,70	0,05
8	0,05		4,90	0,05	9,50	0,10
9			7,30	0,20	5,10	0,05
10			6,70		6,50	0,10
Mediana	0,05	6,25	6,15	0,05	6,40	0,08
Média	0,09	6,32	6,07	0,08	6,63	0,08
Dp	0,058248	0,627429	1,083256	0,05	1,622789	0,026352

Tabela 9 - Valores séricos das bilirrubinas indiretas em mg/dl dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB1e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs DBD.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,15	1,70	5,90	0,25	4,30	0,35
2	0,10	1,70	2,50	0,45	2,10	0,20
3	0,20	2,10	3,40	0,20	2,70	0,30
4	0,25	2,00	4,10	0,30	2,90	0,30
5	0,15	2,30	1,80	0,40	0,60	0,25
6	0,35	3,00	3,40	0,30	2,30	0,25
7	0,25		2,20	0,30	3,10	0,15
8	0,25		3,40	0,35	4,50	0,20
9			2,10	0,40	3,50	0,10
10			4,00		3,50	0,30
Mediana	0,23	2,05	3,40	0,30	3,00	0,25
Média	0,21	2,13	3,28	0,33	2,95	0,24
Dp	0,079057	0,484424	1,222747	0,079495	1,134558	0,07746

Tabela 10 - Valores séricos da alanina aminotransferase (ALT) em U/L dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2) e OB2 vs DBJ.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	99	233	198	99	256	87
2	52	157	308	122	87	186
3	76	279	204	70	250	99
4	81	175	285	128	145	105
5	122	420	122	175	204	87
6	70	145	186	93	308	81
7	99		165	105	163	70
8	163		210	99	116	93
9			180	134	244	99
10			239	931	116	110
Mediana	90,00	204,00	201,00	113,50	183,50	96,00
Média	95,25	234,83	209,70	195,60	188,90	101,70
Dp	34,67296	103,8738	55,27115	259,9556	74,00818	31,87144

Tabela 11 - Valores séricos da aspartato aminotransferase (AST) em U/L dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD e OB2 vs DBJ.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	145	530	512	169	663	209
2	128	436	570	233	250	303
3	169	739	448	250	617	175
4	221	471	594	326	372	256
5	215	384	332	175	541	175
6	110	401	570	210	832	204
7	239		343	204	131	151
8	326		407	215	308	163
9			349	343	524	163
10			605	1141	314	145
Mediana	192,00	453,50	480,00	224,00	448,00	175,00
Média	194,13	493,50	473,00	326,60	455,20	194,40
Dp	70,76811	131,1194	110,3238	291,9373	215,8121	50,48916

Tabela 12 - Valores séricos da fosfatase alcalina em U/L dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB,OB1e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2) OB1vs DBD; OB2 vs DBJ ; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	70	343	376	128	357	76
2	88	269	400	96	252	66
3	74	387	500	215	317	56
4	73	417	494	252	573	75
5	57	297	520	137	381	104
6	90	506	470	115	341	112
7	126		466	93	522	56
8	69		541	150	504	94
9			389	169	547	85
10			351	186	362	124
Mediana	73,50	365,00	468,00	143,50	371,50	80,50
Média	80,88	369,83	450,70	154,10	415,60	84,80
Dp	21,07427	86,31667	66,47146	51,81259	110,9216	23,37045

Tabela 13 - Valores séricos da albumina dos ratos em g/dl submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 submetidos à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD; DBD vs DBJ e OS vs DBD.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	2,4	1,7	2,4	2,3	2,2	2,3
2	2,5	1,6	3,0	1,7	1,8	2,4
3	2,3	2,1	2,4	0,8	2,1	2,3
4	2,5	2,3	2,4	1,6	2,1	2,5
5	2,2	1,7	1,6	2,0	2,5	2,2
6	2,6	1,8	2,6	2,5	2,4	2,1
7	2,3		2,2	2,3	2,8	2,3
8	2,5		2,0	2,2	2,3	2,4
9			2,1	1,5	2,5	2,1
10			2,2	2,1	2,2	2,2
Mediana	2,45	1,75	2,30	2,05	2,25	2,30
Média	2,41	1,87	2,29	1,90	2,29	2,28
Dp	0,13562	0,273252	0,372529	0,507718	0,276687	0,131656

Tabela 14 - Valores séricos do óxido nítrico em μM de NO_3/ml dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Não foram observadas diferenças entre os grupos.

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	15,47	13,1	11,62	8,15
2	10,86	11,54	8,55	8,07
3	15,05	7,8	27,42	8,33
4	9,43	8,54	13,35	8,17
5	11,35	8,04	7,56	10,75
6	11,13	8,37	7,97	9,9
7	17,9		13,29	13,83
8	9,24		7,92	10,88
9			35,31	11,64
10				8,56
Mediana	11,24	8,46	11,62	9,23
Média	12,55	9,57	14,78	9,83
Dp	3,171340129	2,205282295	9,873436585	1,937018327

Tabela 15 - Valores séricos dos leucócitos ($\times 10^3 \text{ mm}^3$) dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 submetidos à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1 e OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ e OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	7,4	58,7	51,6	12,7	92,9	22,2
2	8,6	84,8	43,6	16,9	30,9	20,7
3	5,1	61,1	42,9	21,0	41,2	16,7
4	9,4	50,2	41,7	16,3	41,2	17,2
5	12,0	54,8	82,7	16,4	46,2	12,7
6	10,7	55,0	30,8	12,5	37,8	13,1
7	11,4		59,9	9,9	60,6	8,5
8	9,3		54,3	19,1	60,2	10,4
9			55,6	18,1	33,3	18,9
10			47,8	19,4	46,6	17,2
Mediana	9,35	56,85	49,70	16,65	43,72	16,95
Média	9,24	60,77	51,09	16,23	49,09	15,76
Dp	2,248134	12,34904	13,9107	3,51917	18,32339	4,455259

Tabela 16 - Germes encontrados nas amostras da bile de ratos submetidos a operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	-	-	<i>Streptococcus bovis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	-	-	<i>Streptococcus bovis</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
3	-	-	<i>Streptococcus bovis</i> <i>Escherichia coli</i>	-
4	-	-	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i>
5	-	-	<i>Escherichia coli</i>	<i>Stafilococcus capitis</i>
6	-	-	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
7		-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-
8		-	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus bovis</i>	-
9			<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
10			<i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i>

Tabela 17 - Distribuição do processo inflamatório nas zonas 1, 2, e 3 do lóbulo hepático dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB), e ratos tratados mediante DBD e DBJ. O processo inflamatório foi classificado como ausente (0), leve (1), moderado (2), moderado-intenso (3) e intenso (4) e de acordo com o tipo de infiltrado.

Rato	OS			OB			DBD			DBJ		
	Zonas			Zonas			Zonas			Zonas		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0	0	0	2*	1*	1*	3*	1*	1*	3*	0	1*
2	1*	0	0	2*	1*	1*	2*	0	0	3*	0	1*
3	1*	0	0	2*	0	1*	3**	1*	2*	2**	0	0
4	0	0	0	2*	1*	1*	2*	1*	1*	2*	0	0
5	1*	0	0	2*	1*	1*	2*	1*	1*	1*	0	0
6	0	0	0	2*	1*	1*	2*	1*	1*	3*	1	0
7	2*	0	1*	-	-	-	2***	1*	1*	2*	1*	1*
8	0	0	0	-	-	-	3*	1*	1*	2**	1*	1*
9	-	-	-	-	-	-	3*	1*	1*	2*	1*	1*
10	-	-	-	-	-	-	2*	1*	1*	4*	2*	2*

* - linfomononuclear com presença de neutrófilos;

** - linfomononuclear com presença de neutrófilos e plasmócitos; e

*** - linfomononuclear com alguns fibroblastos

Tabela 18 - Representação dos valores percentuais da fração de volume dos hepatócitos dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD e OB2 vs DBJ.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,63	0,43	0,33	0,56	0,22	0,58
2	0,75	0,29	0,27	0,67	0,19	0,64
3	0,65	0,50	0,33	0,55	0,37	0,58
4	0,73	0,40	0,18	0,56	0,30	0,61
5	0,69	0,36	0,41	0,69	0,35	0,61
6	0,62	0,29	0,27	0,62	0,30	0,67
7	0,67		0,27	0,66	0,27	0,69
8	0,63		0,31	0,57	0,29	0,67
9			0,23	0,52	0,40	0,67
10			0,26	0,53	0,38	0,65
Mediana	0,66	0,38	0,27	0,57	0,30	0,65
Média	0,67	0,38	0,29	0,59	0,31	0,64
Dp	0,05	0,08	0,06	0,06	0,07	0,04

Tabela 19 - Representação dos valores percentuais da fração de volume dos ductos biliares dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB2 vs DBJ; OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,00	0,08	0,12	0,00	0,09	0,03
2	0,00	0,14	0,10	0,00	0,07	0,00
3	0,00	0,06	0,05	0,03	0,08	0,00
4	0,00	0,09	0,04	0,04	0,09	0,00
5	0,00	0,11	0,07	0,01	0,05	0,01
6	0,00	0,15	0,08	0,02	0,07	0,01
7	0,00		0,07	0,02	0,10	0,02
8	0,00		0,09	0,02	0,09	0,01
9			0,08	0,03	0,06	0,01
10			0,07	0,03	0,12	0,02
Mediana	0,00	0,10	0,08	0,02	0,08	0,01
Média	0,00	0,10	0,08	0,02	0,08	0,01
Dp	0,00	0,04	0,02	0,01	0,02	0,01

Tabela 20 - Representação dos valores percentuais da fração de volume da fibrose dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB1 vs DBD; OB2 vs DBJ) e OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,00	0,10	0,10	0,01	0,08	0,02
2	0,00	0,09	0,09	0,02	0,11	0,02
3	0,00	0,08	0,06	0,05	0,15	0,03
4	0,00	0,08	0,06	0,06	0,17	0,03
5	0,00	0,11	0,07	0,01	0,10	0,02
6	0,00	0,21	0,15	0,04	0,07	0,01
7	0,00		0,11	0,03	0,09	0,03
8	0,00		0,11	0,05	0,07	0,02
9			0,07	0,05	0,10	0,04
10			0,09	0,05	0,07	0,02
Mediana	0,00	0,10	0,09	0,05	0,10	0,02
Média	0,00	0,11	0,09	0,04	0,10	0,02
Dp	0,00	0,05	0,03	0,02	0,04	0,01

Tabela 21 - Representação dos valores percentuais da fração de volume dos outros componentes histológicos dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB, OB1 e OB2) e nos animais dos grupos OB1 e OB2 após derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ), respectivamente. Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs (OB, OB1, OB2); OB vs (OB1 e OB2); OB1 vs DBD e OB2 vs DBJ.

Rato	OS	OB	OB1	DBD	OB2	DBJ
1	0,27	0,38	0,45	0,42	0,62	0,40
2	0,25	0,47	0,54	0,31	0,63	0,33
3	0,35	0,36	0,56	0,37	0,40	0,39
4	0,27	0,36	0,72	0,34	0,45	0,36
5	0,31	0,36	0,45	0,28	0,49	0,36
6	0,38	0,36	0,50	0,32	0,56	0,31
7	0,32		0,55	0,29	0,53	0,27
8	0,37		0,50	0,36	0,54	0,30
9			0,62	0,40	0,44	0,28
10			0,58	0,39	0,43	0,31
Mediana	0,32	0,36	0,55	0,35	0,51	0,32
Média	0,31	0,39	0,55	0,35	0,51	0,33
Dp	0,05	0,04	0,08	0,05	0,08	0,05

Tabela 22 - Valores da massa estimada do fígado em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB e OB vs (DBD, DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	27,46	64,89	41,98	38,37
2	33,70	57,79	37,14	34,07
3	33,26	58,42	38,72	38,56
4	35,03	70,68	35,22	35,05
5	35,05	60,31	39,08	37,21
6	31,96	52,17	34,41	36,29
7	39,51		44,06	40,92
8	33,78		31,13	35,00
9			21,60	33,54
10			27,97	28,79
Mediana	33,74	59,37	36,18	35,67
Média	33,72	60,71	35,13	35,78
Dp	3,37	6,38	6,75	3,35

Tabela 23 - Valores da massa estimada dos hepatócitos em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Não houve diferença significativa entre os grupos.

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	17,37	28,19	23,66	22,10
2	25,31	16,97	24,86	21,94
3	21,58	28,96	21,16	22,24
4	25,47	28,48	19,68	21,23
5	24,07	21,44	27,14	22,73
6	19,90	15,10	21,20	24,32
7	26,65		29,15	28,22
8	21,36		17,72	23,50
9			11,24	22,42
10			14,91	18,73
Mediana	22,83	24,81	21,18	22,33
Média	22,71	23,19	21,07	22,74
Dp	3,19	6,22	5,49	2,42

Tabela 24 - Valores da massa estimada da fibrose em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ); OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	0,07	6,60	0,59	0,77
2	0,04	5,31	0,70	0,68
3	0,08	4,84	1,96	1,17
4	0,13	5,57	2,17	1,16
5	0,03	6,66	0,57	0,59
6	0,01	10,87	1,45	0,29
7	0,13		1,54	1,18
8	0,04		1,50	0,72
9			1,05	1,19
10			1,35	0,67
Mediana	0,05	6,09	1,40	0,74
Média	0,07	6,64	1,29	0,84
Dp	0,05	2,19	0,56	0,31

Tabela 25 - Valores da massa estimada de ductos biliares em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB e OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	0,00	5,36	0,08	1,19
2	0,01	8,06	0,07	0,07
3	0,02	3,33	1,11	0,12
4	0,05	6,01	1,42	0,12
5	0,01	6,76	0,25	0,34
6	0,02	7,91	0,67	0,29
7	0,02		0,81	0,62
8	0,00		0,66	0,37
9			0,58	0,39
10			0,84	0,55
Mediana	0,01	6,38	0,67	0,35
Média	0,02	6,24	0,65	0,41
Dp	0,02	1,77	0,43	0,33

Tabela 26 - Valores da massa estimada dos outros elementos histológicos em g/kg de peso corporal dos animais submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB e OB vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	7,49	24,74	17,66	15,37
2	8,34	27,45	11,51	11,37
3	11,58	21,29	14,50	15,03
4	9,39	25,75	11,96	12,56
5	10,94	21,98	11,12	13,55
6	12,03	19,01	11,09	11,39
7	12,71		12,57	10,90
8	12,38		11,25	10,42
9			8,73	9,53
10			10,85	8,84
Mediana	11,26	23,36	11,38	11,38
Média	10,61	23,37	12,12	11,90
Dp	1,96	3,15	2,42	2,20

Tabela 27 - Número de células estreladas hepáticas da zona metabólica hepática 1 nos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB), à DBD e à DBJ – Diferenças significativas observadas entre os Grupos OB vs DBD; OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	25	39	57	43
2	28	46	72	47
3	37	43	152	48
4	41	32	45	62
5	29	17	90	16
6	6	55	49	48
7	6		50	47
8	21		78	88
9			43	84
10			79	77
MEDIANA	26,50	41,00	64,50	48,00
MÉDIA	24,13	38,67	71,50	56,00
Dp	12,86	13,06	32,68	21,97

Tabela 28 - Valores da massa estimada do baço em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ); DBD vs DBJ; OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	1,50	5,89	4,03	2,81
2	1,80	7,04	2,98	2,84
3	1,75	5,15	7,72	2,91
4	1,65	7,32	4,39	2,95
5	1,81	9,16	3,22	4,39
6	1,96	6,30	4,11	2,67
7	1,75		4,35	2,73
8	1,69		3,00	3,35
9				
10				
Mediana	1,75	6,67	4,07	2,87
Média	1,74	6,81	4,23	3,08
Dp	0,13442	1,391029	1,529252	0,569

Tabela 29 - Valores séricos do consumo de oxigênio pelas mitocôndrias hepáticas (n átomos de oxigênio₂/min./mg.prot.) no estado 3 dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OB vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	70,66	71,65	79,08	132,22
2	69,34	74,76	94,03	146,20
3	68,83	83,04	88,85	70,42
4	92,08	62,22	146,98	84,41
5	104,51	61,70	119,38	97,52
6	88,11	70,26	105,10	89,12
7	109,41		113,28	110,35
8	111,16		115,94	105,48
9			129,14	121,42
10			87,90	121,71
Mediana	90	71	109	108
Média	89,26	70,61	107,97	107,89
Dp	18,07769	8,033823	21,07507	23,23952

Tabela 30 - Valores séricos do consumo de oxigênio pelas mitocôndrias hepáticas (n átomos de oxigênio₂/min./mg.prot.) no estado 4 dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; DBD vs DBJ e OS vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	22,23	49,55	46,26	47,45
2	18,85	47,65	32,35	49,13
3	18,26	44,96	63,00	24,03
4	18,90	34,47	49,00	33,77
5	29,10	46,68	36,37	46,09
6	27,39	43,28	37,21	29,77
7	16,62		44,75	24,39
8	30,79		48,10	31,35
9			72,65	33,87
10			47,81	34,16
Mediana	21	46	47	34
Média	22,77	44,43	47,75	35,40
Dp	5,536001	5,337608	12,21673	9,147697

Tabela 31 - Valores da razão do controle respiratório (RCR) dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs DBJ; DBD vs DBJ; OS vs DBD.

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	3,2	1,4	1,7	2,8
2	3,7	1,6	2,9	3,0
3	3,8	1,8	1,4	2,9
4	4,9	1,8	1,7	2,5
5	3,6	1,3	3,3	2,1
6	3,2	1,6	2,8	3,0
7	6,8		2,5	4,5
8	3,6		2,4	3,4
9			1,8	3,6
10			1,8	3,6
Mediana	4	2	2	3
Média	4,10	1,58	2,23	3,14
Dp	1,213025	0,204124	0,636047	0,670323

Tabela 32 - Valores do ADP:O (nM de ADP/nátomos de oxigênio) das mitocôndrias hepáticas dos ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ) e OS vs DBD.

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	1,7	0,7	1,0	1,3
2	1,6	0,7	2,3	1,4
3	1,5	0,9	1,0	1,6
4	1,4	0,7	1,2	1,4
5	1,7	0,9	1,5	1,4
6	1,4	0,8	1,1	1,3
7	1,5		1,2	1,9
8	1,5		1,0	1,0
9			1,1	1,0
10			1,0	1,2
Mediana	2	1	1	1
Média	1,54	0,78	1,24	1,35
Dp	0,118773	0,098319	0,40332	0,267706

Tabela 33 - Valores do potencial de membrana em mV das mitocôndrias hepáticas de ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	150	150	150	148
2	151	150	150	150
3	153	150	150	148
4	151	150	148	149
5	150	150	148	149
6	149	150	150	148
7	145		150	147
8	147		150	150
9			150	149
10			150	148
Mediana	150	150	150	149
Média	149,50	150,00	149,60	148,60
Dp	2,507133	0	0,843274	0,966092

Tabela 34 - Valores do índice de fosforilação oxidativa das mitocôndrias hepáticas em nM de ATP/min./mg de proteína de ratos submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). Apresentação da mediana e da média com o respectivo desvio padrão. Diferenças significativas observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ)

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	120,12	50,16	79,08	171,89
2	110,94	52,33	216,27	204,68
3	103,25	74,74	88,85	112,67
4	128,91	43,55	176,38	118,17
5	177,67	55,53	179,07	136,53
6	123,35	56,21	115,61	115,86
7	164,12	0,00	135,94	209,67
8	166,74	0,00	115,94	105,48
9			142,05	121,42
10			87,90	146,05
Mediana	126,13	53,93	125,94	128,97
Média	136,89	55,42	133,71	144,24
Dp	28,36	10,51	45,35	38,39

Tabela 35 - Valores séricos do malondialdeído (MDA) dos ratos em μM submetidos à operação simulada (OS), à obstrução biliar (OB) e à derivação biliar com o duodeno (DBD) e com o jejuno (DBJ). ____ (Mediana). Diferenças significativas foram observadas entre os grupos OS vs OB; OB vs (DBD e DBJ).

Rato	OS	OB	DBD	DBJ
1	15,09	26,27	19,45	14,41
2	20,97	36,92	9,95	29,05
3	10,24	31,71	15,80	27,12
4	16,13	31,45	17,17	25,40
5	19,45	40,76	16,25	26,91
6	16,03	41,44	20,65	22,83
7	28,80		28,98	24,77
8	20,54		15,30	10,14
9			25,85	12,53
10			27,72	25,72
Mediana	17,79	34,32	18,31	25,09
Média	18,41	34,76	19,71	21,89
Dp	5,461007	5,960313	6,120646	6,844368

8 . A P Ê N D I C E B

Tabela 36 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – BT (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-3.4844	0.1493	<.0001
OS - OB1	-3.5798	0.1311	<.0001
OS - DBD	-0.4148	0.1343	0.0067
OS - OB2	-3.5879	0.1311	<.0001
OS - DBJ	-0.1573	0.1311	0.2469
OB - OB1	-0.09537	0.1428	0.5131
OB - DBD	3.0696	0.1457	<.0001
OB - OB2	-0.1036	0.1428	0.4780
OB - DBJ	3.4225	0.1236	<.0001
OB1 - DBD	3.1650	0.1229	<.0001
OB1 - OB2	0.008196	0.1236	0.9479
OB1 - DBJ	3.4225	0.1236	<.0001
DBD - OB2	-3.1732	0.1270	<.0001
DBD - DBJ	0.2575	0.1270	0.0586
OB2 - DBJ	3.4307	0.1194	<.0001

Tabela 37 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – BD (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-4.4376	0.2023	<.0001
OS - OB1	-4.3867	0.1777	<.0001
OS - DBD	0.007646	0.1815	0.9669
OS - OB2	-4.4619	0.1777	<.0001
OS - DBJ	0.05068	0.1777	0.7789
OB - OB1	0.05087	0.1934	0.7957
OB - DBD	4.4452	0.1969	<.0001
OB - OB2	-0.02437	0.1934	0.9012
OB - DBJ	4.4374	0.1675	<.0001
OB1 - DBD	4.3943	0.1392	<.0001
OB1 - OB2	0.07524	0.1675	0.6590
OB1 - DBJ	4.4374	0.1675	<.0001
DBD - OB2	-4.4696	0.1715	<.0001
DBD - DBJ	0.04304	0.1715	0.8049
OB2 - DBJ	4.5126	0.1342	<.0001

Tabela 38 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – BI (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-2.3523	0.2135	<.0001
OS - OB1	-2.7422	0.1875	<.0001
OS - DBD	-0.4712	0.1921	0.0253
OS - OB2	-2.5865	0.1875	<.0001
OS - DBJ	-0.1291	0.1875	0.5005
OB - OB1	-0.3898	0.2041	0.0732
OB - DBD	1.8812	0.2084	<.0001
OB - OB2	-0.2342	0.2041	0.2672
OB - DBJ	2.6131	0.1768	<.0001
OB1 - DBD	2.2710	0.1816	<.0001
OB1 - OB2	-0.1556	0.1768	0.3909
OB1 - DBJ	2.6131	0.1768	<.0001
DBD - OB2	-2.1153	0.1816	<.0001
DBD - DBJ	0.3421	0.1816	0.0769
OB2 - DBJ	2.4575	0.1768	<.0001

Tabela 39 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – ALT (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-0.8851	0.2359	0.0015
OS - OB1	-0.8125	0.2072	0.0010
OS - DBD	-0.4164	0.2072	0.0597
OS - OB2	-0.6639	0.2072	0.0049
OS - DBJ	-0.08616	0.2072	0.6825
OB - OB1	0.07259	0.2256	0.7513
OB - DBD	0.4687	0.2256	0.0523
OB - OB2	0.2212	0.2256	0.3400
OB - DBJ	0.7263	0.1954	0.0016
OB1 - DBD	0.3961	0.1954	0.0577
OB1 - OB2	-0.1486	0.1954	0.4569
OB1 - DBJ	0.7263	0.1954	0.0016
DBD - OB2	-0.2475	0.1954	0.2213
DBD - DBJ	0.3302	0.1954	0.1082
OB2 - DBJ	0.5778	0.1954	0.0084

Tabela 40 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – AST (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-0.9645	0.2171	0.0003
OS - OB1	-0.9219	0.1907	0.0001
OS - DBD	-0.3853	0.1907	0.0584
OS - OB2	-0.7881	0.1907	0.0006
OS - DBJ	-0.03163	0.1907	0.8701
OB - OB1	0.04255	0.2076	0.8399
OB - DBD	0.5791	0.2076	0.0121
OB - OB2	0.1763	0.2076	0.4068
OB - DBJ	0.8903	0.1798	0.0001
OB1 - DBD	0.5366	0.1639	0.0042
OB1 - OB2	-0.1338	0.1798	0.4664
OB1 - DBJ	0.8903	0.1798	0.0001
DBD - OB2	-0.4028	0.1798	0.0379
DBD - DBJ	0.3537	0.1798	0.0647
OB2 - DBJ	0.7565	0.1639	0.0002

Tabela 41 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – FA (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-1.5240	0.1399	<.0001
OS - OB1	-1.7340	0.1229	<.0001
OS - DBD	-0.6213	0.1229	<.0001
OS - OB2	-1.6301	0.1229	<.0001
OS - DBJ	-0.03907	0.1229	0.7542
OB - OB1	-0.2100	0.1338	0.1339
OB - DBD	0.9027	0.1338	<.0001
OB - OB2	-0.1061	0.1338	0.4380
OB - DBJ	1.6949	0.1158	<.0001
OB1 - DBD	1.1126	0.1134	<.0001
OB1 - OB2	-0.1039	0.1158	0.3817
OB1 - DBJ	1.6949	0.1158	<.0001
DBD - OB2	-1.0088	0.1158	<.0001
DBD - DBJ	0.5823	0.1158	<.0001
OB2 - DBJ	1.5910	0.1134	<.0001

Tabela 42 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – ALB (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	0.2636	0.09697	0.0141
OS - OB1	0.06301	0.08517	0.4690
OS - DBD	0.2804	0.08517	0.0041
OS - OB2	0.05735	0.08517	0.5093
OS - DBJ	0.05659	0.08517	0.5148
OB - OB1	-0.2006	0.09273	0.0442
OB - DBD	0.01679	0.09273	0.8583
OB - OB2	-0.2063	0.09273	0.0391
OB - DBJ	-0.00642	0.08030	0.9371
OB1 - DBD	0.2174	0.08030	0.0144
OB1 - OB2	0.005662	0.08030	0.9446
OB1 - DBJ	-0.00642	0.08030	0.9371
DBD - OB2	-0.2231	0.08030	0.0124
DBD - DBJ	-0.2238	0.08030	0.0122
OB2 - DBJ	-0.00076	0.08030	0.9926

Tabela 43 Comparações entre os grupos – óxido nítrico (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
DBD - OS	0.0323	-0.4265	0.4912	NR
DBD - DBJ	0.2667	-0.1672	0.7006	NR
DBD - OB	0.2979	-0.1998	0.7956	NR
OS - DBD	-0.0323	-0.4912	0.4265	NR
OS - DBJ	0.2344	-0.2135	0.6823	NR
OS - OB	0.2656	-0.2444	0.7756	NR
DBJ - DBD	-0.2667	-0.7006	0.1672	NR
DBJ - OS	-0.2344	-0.6823	0.2135	NR
DBJ - OB	0.0312	-0.4564	0.5188	NR
OB - DBD	-0.2979	-0.7956	0.1998	NR
OB - OS	-0.2656	-0.7756	0.2444	NR
OB - DBJ	-0.0312	-0.5188	0.4564	NR

p-valor = 0,21 – referente à ANOVA.

NR – não realizado

Tabela 44 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – GB (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-1.8993	0.1490	<.0001
OS - OB1	-1.7096	0.1308	<.0001
OS - DBD	-0.5704	0.1308	0.0004
OS - OB2	-1.6486	0.1308	<.0001
OS - DBJ	-0.5243	0.1308	0.0008
OB - OB1	0.1897	0.1424	0.1995
OB - DBD	1.3289	0.1424	<.0001
OB - OB2	0.2507	0.1424	0.0954
OB - DBJ	1.1852	0.1234	<.0001
OB1 - DBD	1.1392	0.1234	<.0001
OB1 - OB2	-0.06095	0.1234	0.6272
OB1 - DBJ	1.1852	0.1234	<.0001
DBD - OB2	-1.0783	0.1234	<.0001
DBD - DBJ	0.04603	0.1234	0.7134
OB2 - DBJ	1.1243	0.1234	<.0001

Tabela 45 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – hepatócitos (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	0.5909	0.09156	<.0001
OS - OB1	0.8731	0.08042	<.0001
OS - DBD	0.1265	0.08042	0.1331
OS - OB2	0.8049	0.08042	<.0001
OS - DBJ	0.05191	0.08042	0.5267
OB - OB1	0.2822	0.08755	0.0047
OB - DBD	-0.4645	0.08755	<.0001
OB - OB2	0.2140	0.08755	0.0250
OB - DBJ	-0.8212	0.07582	<.0001
OB1 - DBD	-0.7466	0.06969	<.0001
OB1 - OB2	0.06817	0.07582	0.3805
OB1 - DBJ	-0.8212	0.07582	<.0001
DBD - OB2	0.6784	0.07582	<.0001
DBD - DBJ	-0.07459	0.07582	0.3383
OB2 - DBJ	-0.7530	0.06969	<.0001

Tabela 46 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – ductos biliares (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-36.8410	5.2667	<.0001
OS - OB1	-36.5365	4.6258	<.0001
OS - DBD	-28.3072	4.6258	<.0001
OS - OB2	-36.6139	4.6258	<.0001
OS - DBJ	-24.4256	4.6258	<.0001
OB - OB1	0.3045	5.0359	0.9524
OB - DBD	8.5338	5.0359	0.1074
OB - OB2	0.2271	5.0359	0.9645
OB - DBJ	12.1108	4.3612	0.0124
OB1 - DBD	8.2293	4.3612	0.0754
OB1 - OB2	0.07746	4.3612	0.9860
OB1 - DBJ	12.1108	4.3612	0.0124
DBD - OB2	-8.3068	4.3612	0.0729
DBD - DBJ	3.8815	4.3612	0.3852
OB2 - DBJ	12.1883	4.3612	0.0120

Tabela 47 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – fibrose (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-36.8890	0.2177	<.0001
OS - OB1	-36.7064	0.1912	<.0001
OS - DBD	-35.6795	0.1912	<.0001
OS - OB2	-36.8046	0.1912	<.0001
OS - DBJ	-35.3536	0.1912	<.0001
OB - OB1	0.1826	0.2082	0.3920
OB - DBD	1.2094	0.2082	<.0001
OB - OB2	0.08431	0.2082	0.6902
OB - DBJ	1.3528	0.1803	<.0001
OB1 - DBD	1.0269	0.1707	<.0001
OB1 - OB2	0.09825	0.1803	0.5924
OB1 - DBJ	1.3528	0.1803	<.0001
DBD - OB2	-1.1251	0.1803	<.0001
DBD - DBJ	0.3260	0.1803	0.0873
OB2 - DBJ	1.4511	0.1707	<.0001

Tabela 48 Comparações entre os grupos – modelo de efeitos mistos – outros elementos (transformação logarítmica)

Comparações	Estimativas	Erro padrão	p-valor
OS - OB	-0.1977	0.07699	0.0194
OS - OB1	-0.5531	0.06762	<.0001
OS - DBD	-0.1017	0.06762	0.1497
OS - OB2	-0.4795	0.06762	<.0001
OS - DBJ	-0.05205	0.06762	0.4514
OB - OB1	-0.3554	0.07361	0.0001
OB - DBD	0.09596	0.07361	0.2088
OB - OB2	-0.2818	0.07361	0.0012
OB - DBJ	0.5010	0.06375	<.0001
OB1 - DBD	0.4513	0.06145	<.0001
OB1 - OB2	-0.07356	0.06375	0.2636
OB1 - DBJ	0.5010	0.06375	<.0001
DBD - OB2	-0.3778	0.06375	<.0001
DBD - DBJ	0.04969	0.06375	0.4458
OB2 - DBJ	0.4274	0.06145	<.0001

Tabela 49 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – massa hepática (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBJ	0.52830	0.32657	0.73003	***
OB - DBD	0.56142	0.35969	0.76315	***
OB - OS	0.58800	0.37702	0.79897	***
DBJ - OB	-0.52830	-0.73003	-0.32657	***
DBJ - DBD	0.03312	-0.14159	0.20782	
DBJ - OS	0.05969	-0.12561	0.24500	
DBD - OB	-0.56142	-0.76315	-0.35969	***
DBD - DBJ	-0.03312	-0.20782	0.14159	
DBD - OS	0.02658	-0.15872	0.21188	
OS - OB	-0.58800	-0.79897	-0.37702	***
OS - DBJ	-0.05969	-0.24500	0.12561	
OS - DBD	-0.02658	-0.21188	0.15872	

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 50 Comparações entre os grupos – massa hepatócitos (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
DBJ - OS	0.00543	-0.27364	0.28450	NR
DBJ - OB	0.00842	-0.29540	0.31223	NR
DBJ - DBD	0.10609	-0.15702	0.36919	NR
OS - DBJ	-0.00543	-0.28450	0.27364	NR
OS - OB	0.00299	-0.31475	0.32072	NR
OS - DBD	0.10066	-0.17841	0.37973	NR
OB - DBJ	-0.00842	-0.31223	0.29540	NR
OB - OS	-0.00299	-0.32072	0.31475	NR
OB - DBD	0.09767	-0.20614	0.40148	NR
DBD - DBJ	-0.10609	-0.36919	0.15702	NR
DBD - OS	-0.10066	-0.37973	0.17841	NR
DBD - OB	-0.09767	-0.40148	0.20614	NR

p-valor = 0,67 – referente à ANOVA.

NR – não realizado

Tabela 51 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – massa fibrose (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBD	1.6996	0.9131	2.4862	***
OB - DBJ	2.1052	1.3186	2.8917	***
OB - OS	4.8324	4.0098	5.6550	***
DBD - OB	-1.6996	-2.4862	-0.9131	***
DBD - DBJ	0.4056	-0.2756	1.0867	
DBD - OS	3.1328	2.4103	3.8552	***
DBJ - OB	-2.1052	-2.8917	-1.3186	***
DBJ - DBD	-0.4056	-1.0867	0.2756	
DBJ - OS	2.7272	2.0047	3.4497	***
OS - OB	-4.8324	-5.6550	-4.0098	***
OS - DBD	-3.1328	-3.8552	-2.4103	***
OS - DBJ	-2.7272	-3.4497	-2.0047	***

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 52 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – massa ductos biliares (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBD	2.576	-3.504	8.657	
OB - DBJ	2.996	-3.085	9.076	
OB - OS	10.539	4.180	16.899	***
DBD - OB	-2.576	-8.657	3.504	
DBD - DBJ	0.419	-4.847	5.685	
DBD - OS	7.963	2.378	13.548	***
DBJ - OB	-2.996	-9.076	3.085	
DBJ - DBD	-0.419	-5.685	4.847	
DBJ - OS	7.544	1.958	13.129	***
OS - OB	-10.539	-16.899	-4.180	***
OS - DBD	-7.963	-13.548	-2.378	***
OS - DBJ	-7.544	-13.129	-1.958	***

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 53 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – massa outros elementos.

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBD	11.246	7.874	14.618	***
OB - DBJ	11.474	8.102	14.846	***
OB - OS	12.763	9.236	16.289	***
DBD - OB	-11.246	-14.618	-7.874	***
DBD - DBJ	0.228	-2.692	3.148	
DBD - OS	1.517	-1.581	4.614	
DBJ - OB	-11.474	-14.846	-8.102	***
DBJ - DBD	-0.228	-3.148	2.692	
DBJ - OS	1.289	-1.809	4.386	
OS - OB	-12.763	-16.289	-9.236	***
OS - DBD	-1.517	-4.614	1.581	
OS - DBJ	-1.289	-4.386	1.809	

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 54 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – células estreladas.

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
DBD - DBJ	15.50	-12.56	43.56	
DBD - OB	32.83	0.44	65.23	***
DBD - OS	47.38	17.62	77.13	***
DBJ - DBD	-15.50	-43.56	12.56	
DBJ - OB	17.33	-15.06	49.73	
DBJ - OS	31.88	2.12	61.63	***
OB - DBD	-32.83	-65.23	-0.44	***
OB - DBJ	-17.33	-49.73	15.06	
OB - OS	14.54	-19.34	48.42	
OS - DBD	-47.38	-77.13	-17.62	***
OS - DBJ	-31.88	-61.63	-2.12	***
OS - OB	-14.54	-48.42	19.34	

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela55 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – massa do baço (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBD	0.5066	0.2030	0.8101	***
OB - DBJ	0.7889	0.4854	1.0925	***
OB - OS	1.3511	1.0476	1.6547	***
DBD - OB	-0.5066	-0.8101	-0.2030	***
DBD - DBJ	0.2824	0.0013	0.5634	***
DBD - OS	0.8445	0.5635	1.1256	***
DBJ - OB	-0.7889	-1.0925	-0.4854	***
DBJ - DBD	-0.2824	-0.5634	-0.0013	***
DBJ - OS	0.5622	0.2811	0.8432	***
OS - OB	-1.3511	-1.6547	-1.0476	***
OS - DBD	-0.8445	-1.1256	-0.5635	***
OS - DBJ	-0.5622	-0.8432	-0.2811	***

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 56 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – estado 3.

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
DBD - DBJ	0.083	-23.693	23.859	
DBD - OS	18.706	-6.512	43.923	
DBD - OB	37.363	9.909	64.817	***
DBJ - DBD	-0.083	-23.859	23.693	
DBJ - OS	18.623	-6.595	43.840	
DBJ - OB	37.280	9.826	64.734	***
OS - DBD	-18.706	-43.923	6.512	
OS - DBJ	-18.623	-43.840	6.595	
OS - OB	18.657	-10.054	47.369	
OB - DBD	-37.363	-64.817	-9.909	***
OB - DBJ	-37.280	-64.734	-9.826	***
OB - OS	-18.657	-47.369	10.054	

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 57 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – estado 4.

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
DBD - OB	3.318	-9.380	16.016	
DBD - DBJ	12.349	1.352	23.346	***
DBD - OS	24.983	13.319	36.646	***
OB - DBD	-3.318	-16.016	9.380	
OB - DBJ	9.031	-3.667	21.729	
OB - OS	21.664	8.384	34.944	***
DBJ - DBD	-12.349	-23.346	-1.352	***
DBJ - OB	-9.031	-21.729	3.667	
DBJ - OS	12.634	0.970	24.297	***
OS - DBD	-24.983	-36.646	-13.319	***
OS - OB	-21.664	-34.944	-8.384	***
OS - DBJ	-12.634	-24.297	-0.970	***

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 58 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – RCR (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OS - DBJ	0.2558	-0.0496	0.5611	
OS - DBD	0.6144	0.3090	0.9197	***
OS - OB	0.9273	0.5796	1.2750	***
DBJ - OS	-0.2558	-0.5611	0.0496	
DBJ - DBD	0.3586	0.0707	0.6465	***
DBJ - OB	0.6715	0.3391	1.0040	***
DBD - OS	-0.6144	-0.9197	-0.3090	***
DBD - DBJ	-0.3586	-0.6465	-0.0707	***
DBD - OB	0.3129	-0.0195	0.6454	
OB - OS	-0.9273	-1.2750	-0.5796	***
OB - DBJ	-0.6715	-1.0040	-0.3391	***
OB - DBD	-0.3129	-0.6454	0.0195	

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 59 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – ADP:O (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OS - DBJ	0.14474	-0.10025	0.38973	
OS - DBD	0.24821	0.00322	0.49320	***
OS - OB	0.67822	0.39929	0.95715	***
DBJ - OS	-0.14474	-0.38973	0.10025	
DBJ - DBD	0.10347	-0.12751	0.33445	
DBJ - OB	0.53348	0.26677	0.80019	***
DBD - OS	-0.24821	-0.49320	-0.00322	***
DBD - DBJ	-0.10347	-0.33445	0.12751	
DBD - OB	0.43001	0.16330	0.69672	***
OB - OS	-0.67822	-0.95715	-0.39929	***
OB - DBJ	-0.53348	-0.80019	-0.26677	***
OB - DBD	-0.43001	-0.69672	-0.16330	***

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 60 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – potencial membrana (logaritmo).

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBD	0.002685	-0.010525	0.015895	NR
OB - OS	0.003463	-0.010353	0.017278	NR
OB - DBJ	0.009396	-0.003814	0.022606	NR
DBD - OB	-0.002685	-0.015895	0.010525	NR
DBD - OS	0.000778	-0.011356	0.012912	NR
DBD - DBJ	0.006712	-0.004729	0.018152	NR
OS - OB	-0.003463	-0.017278	0.010353	NR
OS - DBD	-0.000778	-0.012912	0.011356	NR
OS - DBJ	0.005933	-0.006201	0.018068	NR
DBJ - OB	-0.009396	-0.022606	0.003814	NR
DBJ - DBD	-0.006712	-0.018152	0.004729	NR
DBJ - OS	-0.005933	-0.018068	0.006201	NR

p-valor = 0,23 – referente à ANOVA.

NR – não realizado

Tabela 61 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – fosforilação oxidativa.

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
DBJ - OS	7.35	-38.52	53.23	
DBJ - DBD	10.53	-32.72	53.79	
DBJ - OB	88.82	38.88	138.77	***
OS - DBJ	-7.35	-53.23	38.52	
OS - DBD	3.18	-42.70	49.05	
OS - OB	81.47	29.23	133.70	***
DBD - DBJ	-10.53	-53.79	32.72	
DBD - OS	-3.18	-49.05	42.70	
DBD - OB	78.29	28.34	128.23	***
OB - DBJ	-88.82	-138.77	-38.88	***
OB - OS	-81.47	-133.70	-29.23	***
OB - DBD	-78.29	-128.23	-28.34	***

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.

Tabela 62 Comparações entre os grupos – pós teste de Tukey – malondialdeído.

Comparações	Diferenças	IC 95%		Teste de Tukey
OB - DBJ	12.870	4.195	21.546	***
OB - DBD	15.046	6.371	23.722	***
OB - OS	16.352	7.279	25.425	***
DBJ - OB	-12.870	-21.546	-4.195	***
DBJ - DBD	2.176	-5.337	9.689	
DBJ - OS	3.482	-4.487	11.450	
DBD - OB	-15.046	-23.722	-6.371	***
DBD - DBJ	-2.176	-9.689	5.337	
DBD - OS	1.306	-6.663	9.274	
OS - OB	-16.352	-25.425	-7.279	***
OS - DBJ	-3.482	-11.450	4.487	
OS - DBD	-1.306	-9.274	6.663	

*** p-valor < 0,01 – referente à ANOVA.