

RAFAEL KEMP

**A influência de três modalidades de derivação
biliodigestiva na excreção hepatobiliar e no reparo das
lesões hepáticas de ratos com fibrose biliar secundária**

**Tese de Doutorado apresentada ao
Departamento de Cirurgia e Anatomia da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
– Universidade de São Paulo**

Área de Concentração: Cirurgia

**Orientador: Prof. Dr. José
Sebastião dos Santos**

Ribeirão Preto

2009

Ficha Catalográfica

Kemp, Rafael

A influência de três modalidades de derivação biliodigestiva na excreção hepatobiliar e no reparo das lesões hepáticas de ratos com fibrose biliar secundária. Ribeirão Preto, 2009.

120 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Cirurgia.

Orientador: Santos, José Sebastião dos.

1. Obstrução biliar
2. Fibrose biliar secundária
3. Hipertensão portal
4. Derivação biliodigestiva
5. Cintilografia hepatobiliar
6. Regeneração hepática
7. Células estreladas

KEMP, RAFAEL. A influência de três modalidades de derivação biliodigestiva na excreção hepatobiliar e no reparo das lesões hepáticas de ratos com fibrose biliar secundária.

Tese apresentada ao Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

*À **Priscilla,***

Minha esposa e companheira, apoio nos momentos difíceis, que retribuiu com amor, cumplicidade e compreensão as inúmeras horas de convívio que foram tiradas para a realização deste trabalho.

*Aos meus queridos avós, **Teresinha e João,***

Por tudo o que significam em minha vida e pelos princípios que enraizaram em minha alma

*Aos meus pais, **Maria José e Moacir,***

Que apesar da distância nunca me deixaram só !

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. José Sebastião dos Santos, meu orientador, mestre e amigo, por tudo o que fez por mim, pelo gratificante convívio na lida diária e pela competência, estímulo constante e paciência dedicada na orientação desta tese, encontrando sempre tempo para apreciá-la de forma minuciosa e com elevado espírito científico.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Orlando de Castro e Silva Jr.**, pela confiança e pelas oportunidades proporcionadas, trazendo no exame de qualificação diversos comentários e sugestões, de grande valia, que foram inseridos neste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Ajith Kumar Sankarankutty**, pela compreensão, apoio e pelas sugestões que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. José Luiz Pimenta Módena e ao Dr. José Eduardo Brunaldi**, pelo incentivo constante e pelo aprendizado que me proporcionaram ao longo dos anos.

Ao **Dr. Whemberton Martins de Araújo**, por todas as orientações nas etapas da medicina nuclear.

Aos **Srs. Sebastião Assis Mazzeto e Paulo Alves Júnior**, pelo apoio incondicional na exaustiva fase experimental deste trabalho.

À bibliotecária **Maria Cristina M. Ferreira**, pela disponibilidade em realizar a prestativa revisão final.

Ao **Sr. Davi Casale Aragon**, pela análise estatística dos meus dados.

À **Sra. Elis Regina Alves**, sempre solícita em ajudar nas diversas etapas do curso de pós-graduação.

A todos os meus amigos que, de alguma forma, contribuíram e ofereceram sugestões para o enriquecimento desta tese, fica aqui meu reconhecimento.

RESUMO

KEMP, R. **A influência de três modalidades de derivação biliodigestiva na excreção hepatobiliar e no reparo das lesões hepáticas de ratos com fibrose biliar secundária.** 2009. 120 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

A obstrução biliar extra-hepática crônica pode ser revertida mediante derivação bilioduodenal (DD) ou biliojejunal (DJ). A descompressão da alça exclusiva do Y de Roux através de anastomose duodenojejunal laterolateral (DJD) é uma alternativa proposta para prevenir o refluxo enterobiliar e a estase. O objetivo desse estudo é comparar a influência dessas 3 modalidades de derivação bilioentérica na reparação das lesões hepáticas de ratos com obstrução biliar. Foram utilizados 33 ratos com 15 dias de obstrução biliar divididos em 4 subgrupos: IC (Ictérico), DDpre, DJpre, DJDpre, onde os 3 últimos foram submetidos, respectivamente, à DD, DJ e DJD e avaliados após 2 meses. No grupo controle (CO), 8 animais foram submetidos à operação simulada. Foram mensuradas, no soro, de todos os grupos, as bilirrubinas totais e frações, a fosfatase alcalina (FA) e as aminotransferases (ALT e AST). Verificou-se o peso úmido do fígado e do baço e calculou-se, mediante análise morfométrica do fígado, a massa estimada de hepatócitos, ductos biliares e fibrose. Procedeu-se, por estudo imunohistoquímico do fígado, a contagem das células estreladas. A excreção hepatobilioentérica foi avaliada mediante estudo cintilográfico com ^{99m}TcDisida. Após as 3 modalidades de derivação biliar houve redução significativa das bilirrubinas totais e frações, da AST e da FA. Houve recuperação completa da massa estimada dos componentes histológicos após DJ e DJD, mas no grupo DD a massa estimada de hepatócitos não se restabeleceu em comparação ao grupo CO. Houve aumento significativo das células estreladas hepáticas no grupo IC em relação ao grupo CO. Após DD, DJ e DJD houve redução significativa do número destas células, sem distinção entre os grupos operados e o CO. No estudo cintilográfico, o Tmax e T1/2 de eliminação do radiofármaco foram atingidos rapidamente nos grupos DD, DJ e DJD, sem diferença significativa entre eles e o grupo CO. A atividade residual hepática (R20/Max) foi equivalente entre os grupos DD, DJ e DJD e significativamente menor na comparação com o grupo IC. Todavia, no grupo DJD, a R20/Max foi significativamente maior em relação ao CO. A interposição da alça jejunal entre a via biliar e o trânsito intestinal pode retardar o fluxo hepatobiliar, mas não afeta a resolução da colestase e é mais efetiva na reparação das lesões hepáticas.

Palavras-chave: Icterícia obstrutiva, fibrose biliar secundária, derivação biodigestiva, hipertensão portal, células estreladas, cintilografia hepatobiliar dinâmica.

ABSTRACT

KEMP, R. **Influence of three modalities of biliodigestive shunt on hepatobiliary secretion and on the repair of hepatic injuries of rats with secondary biliary fibrosis.** 2009. 120 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009

The hepatic injuries and portal hypertension resulting from chronic extrahepatic biliary obstruction can be reversed by a bilioduodenal (DS) or biliojejunal (JS) shunt. Decompression of the excluded Roux-en-Y loop by means of a laterolateral duodenojejunal anastomosis (JDS) has been proposed in order to prevent enterobiliary reflux and stasis. The objective of the present study was to compare the influence of these 3 modalities of bilioenteric shunt on the repair of hepatic injuries in rats with biliary obstruction divided into 4 groups: icteric (IC), DSpre, JSpre, and JDSpre, with the last 3 groups being respectively submitted to DS, JS and JDS and being evaluated 2 months later. In the control group (CO), 8 animals were submitted to sham operation. Total bilirubins and fractions, alkaline phosphatase (AP) and aminotransferases (ALT and AST) were measured in the serum of all animals. The estimated mass of hepatocytes, bile ducts and fibrosis was calculated by morphometric analysis and by the determination of liver and spleen wet weight. Liver stellate cell counts were performed by immunohistochemistry. Hepatobilioenteric excretion was evaluated by scintigraphy with $^{99m}\text{TcDisida}$. A significant reduction of total bilirubins and fractions, AST and FA occurred after all 3 bile shunt modalities. There was complete recovery of the estimated mass of the histological components studied after JS and JDS, but the estimated hepatocyte mass was not reestablished in the DS group compared to CO. There was a significant increase of hepatic stellate cells in the IC group compared to CO. After DS, JS and JDS there was a significant reduction of stellate cells with no difference between the operated groups and CO. In the scintigraphy study, the T_{max} and T_{1/2} of radiopharmaceutical elimination were reached rapidly in groups DS, JS and JDS, with no difference between them and CO. Residual hepatic activity (R_{20/Max}) was equivalent in groups DS, JS and JDS and was significantly lower compared to IC. However, JDS group, the R_{20/Max} was significantly higher compared to CO. The interposition of a jejunal loop between the bile duct and the intestinal transit may delay the hepatobiliary flow, but does not affect the resolution of cholestasis and is more effective in the repair of hepatic injuries.

Key words: Obstructive jaundice, secondary biliary fibrosis, biliodigestive shunt, portal hypertension, stellate cells, hepatobiliary scintigraphy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Delineamento da pesquisa.....	36
Figura 2 -	Ligadura e transsecção da via biliar.....	38
Figura 3 -	Derivações biliodigestivas.....	39
Figura 4 -	Avaliação morfométrica hepática, utilizando a função de segmentação por camada de cor e marcação dos ductos biliares.....	42
Figura 5 -	Representação da área de interesse de deslocamento da platina	43
Figura 6 -	Esquema da arquitetura hepática microscópica evidenciando as zonas metabólicas hepáticas	44
Figura 7 -	Fígado e baço de ratos submetidos à obstrução biliar e à operação simulada.....	48
Figura 8 -	Via biliar dilatada.....	49
Figura 9 -	Representação dos valores séricos de Bilirrubina Total	51
Figura 10 -	Representação dos valores séricos de Bilirrubina Direta.....	51
Figura 11 -	Representação dos valores séricos de Fosfatase Alcalina	52
Figura 12 -	Representação dos valores séricos da Alanina Aminotransferase	52
Figura 13 -	Representação dos valores séricos da Aspartato Aminotransferase	53
Figura 14 -	Aspecto histológico do fígado corado pelo Tricômico de Masson em aumento de 100X e 400X	56
Figura 15 -	Representação dos valores da fração de volume dos hepatócitos	57
Figura 16 -	Representação dos valores da fração de volume de fibrose hepática	57
Figura 17 -	Representação dos valores da fração de volume dos ductos biliares.....	58
Figura 18 -	Representação dos valores da fração de volume de outros elementos histológicos hepáticos.....	58
Figura 19 -	Representação dos valores do número de ductos biliares.....	60
Figura 20 -	Representação dos valores de densidade dos ductos biliares	60
Figura 21 -	Representação dos valores da massa estimada do fígado.....	62

Figura 22 -	Representação dos valores da massa estimada do baço	62
Figura 23 -	Representação dos valores da massa estimada de hepatócitos	63
Figura 24 -	Representação dos valores da massa estimada de fibrose hepática	63
Figura 25 -	Representação dos valores da massa estimada de ductos biliares	64
Figura 26 -	Representação dos valores da massa estimada de outros elementos histológicos hepáticos.....	64
Figura 27 -	Representação dos valores do número de células estreladas hepáticas.....	65
Figura 28 -	Prancha de cortes histológicos do fígado marcados por imunohistoquímica, com indicação das células estreladas	66
Figura 29 -	Representação dos valores do tempo de aparecimento do radiofármaco no intestino delgado	69
Figura 30 -	Representação dos valores de atividade hepática máxima	69
Figura 31 -	Representação dos valores de tempo para eliminação hepática de metade do radiotraçador	70
Figura 32 -	Representação dos valores da razão da atividade do marcador radioativo em 20 minutos/máximo.....	70
Figura 33 -	Tempo de aparecimento do elemento radioativo no intestino delgado no grupo CO.....	71
Figura 34 -	Tempo de aparecimento do elemento radioativo no intestino delgado no grupo IC.....	72
Figura 35 -	Tempo de aparecimento do elemento radioativo no intestino delgado no grupo DD	73
Figura 36 -	Tempo de aparecimento do elemento radioativo no intestino delgado no grupo DJ.....	74
Figura 37 -	Tempo de aparecimento do elemento radioativo no intestino delgado no grupo DJD	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores bioquímicos médios e desvios-padrão de bilirrubinas totais, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase	50
Tabela 2 -	Fração de volume (%) dos elementos histológicos do fígado (média ± desvio padrão)	55
Tabela 3 -	Número e densidade de ductos (média ± desvio padrão)	59
Tabela 4 -	Massa relativa do fígado e do baço (g/kg) e a massa estimada (g/kg) dos componentes histológicos do fígado (média ± desvio padrão).....	61
Tabela 5 -	Número de células estreladas (média ± desvio padrão)	65
Tabela 6 -	Valores de tempo para eliminação hepática de metade do radiotraçador ($T_{1/2}$), atividade hepática máxima (T_{max}) expressos em minutos, tempo de aparecimento do radiofármaco no intestino delgado ($T_{intestino}$) expressos em segundos (média ± desvio padrão).....	68

LISTA DE SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotrasferase
BD	Bilirrubina Direta
BI	Bilirrubina Indireta
BT	Bilirrubina Total
CE	Células Estreladas
CO	Grupo Controle normal
DD	Derivação Bilioduodenal
DJ	Derivação Biliojejunal
DJD	Derivação Biliojejunal com descompressão da alça jejunal exclusiva
FA	Fosfatase Alcalina
IC	Grupo com obstrução biliar (ictérico)
min.	minutos
OB	Grupo obstrução biliar
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> (Tampão Salino Fosfato)
R 20/Max	Razão 20 minutos pela atividade hepática máxima
REB	Refluxo Enterobiliar
T ½	Tempo para eliminação de 50% do elemento radiativo captado pelo fígado
T intestino	Tempo de aparecimento do elemento radiativo no intestino delgado
T Max	Tempo de atividade hepática máxima
vs	Versus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
3 OBJETIVO	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	34
4.1.1 Distribuição e alocação dos animais em grupos e subgrupos:	34
4.2 ANESTESIA	37
4.3 TÉCNICA OPERATÓRIA	37
4.4 BIOQUÍMICA DO SANGUE	40
4.4.1 Coleta do sangue	40
4.4.2 Dosagens no soro	40
4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA DO FÍGADO	40
4.6 QUANTIFICAÇÃO DA FUNÇÃO EXCRETORA HEPÁTICA E DA PERMEABILIDADE DA VIA BILIAR COM DISIDA ^{99M} Tc	44
4.6.1 Aparelhagem	44
4.6.2 Radiotraçador	45
4.6.3 Técnica	45
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5 RESULTADOS	47
5.1 EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA	48
5.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA E INSPEÇÃO DA CAVIDADE	48
5.3 ANÁLISE BIOQUÍMICA DO SANGUE	49

5.3.1 Dosagem das bilirrubinas totais e frações, das aminotransferases e da.....	49
5.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA DO FÍGADO.....	53
5.4.1 Análise microscópica qualitativa.....	53
5.4.2 Análise microscópica quantitativa da fração de volume dos componentes histológicos do fígado.....	54
5.4.3 Análise do número e densidade dos ductos biliares	59
5.4.4 Análise da massa estimada do fígado e microscópica quantitativa dos seus componentes histológicos	61
5.4.5 Análise das células estreladas hepáticas	65
5.5 ANÁLISE DA CINTILOGRAFIA HEPATOBILIAR DINÂMICA COM DISIDA ^{99M} TC.....	67
6 DISCUSSÃO	76
7 CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICE – Tabelas de valores individuais dos animais estudados.....	109

1 INTRODUÇÃO

A obstrução biliar crônica pode evoluir para fibrose e cirrose biliar, hipertensão portal e falência hepatocelular (ZIMMERMANN et al., 1992). O intervalo de tempo entre o início da obstrução biliar e o aparecimento da cirrose varia amplamente, desde dois meses em pacientes com obstrução biliar por tumor até sete anos na obstrução biliar de etiologia benigna (SCOBIE; SUMMERSKILL, 1965). No rato, a fibrose biliar secundária já está presente após duas semanas de ligadura do ducto biliar, e após quatro semanas ocorrerá cirrose biliar secundária (CASTRO E SILVA JUNIOR et al., 1995; SANTOS et al., 1996a, 1998).

A fibrose biliar secundária é caracterizada pelo aparecimento da proliferação dos canalículos biliares, do desenvolvimento de fibrose e da presença de infiltrado mononuclear nos espaços portais. Neste estágio da doença, há preservação das relações vasculares entre o espaço porta e a veia hepática (ABDEL-AZIZ et al., 1990; DUTRA et al., 2008; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001). A persistência do quadro obstrutivo induz à fragmentação do parênquima hepático e o surgimento de nódulos parenquimatosos, caracterizando assim, a cirrose biliar secundária. 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).

Na prática clínica, a fibrose e a cirrose biliar secundária são freqüentemente, consideradas como estágio final e irreversível da lesão hepática (FRIEDMAN, 1993). Por outro lado, há registros clínicos (HAMMEL et al., 2001; YEONG; NICHOLSON; LEE, 1982) e experimentais (ABDEL-AZIZ et al, 1990; ARONSON et al., 1993; DUTRA et al, 2008; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al., 1998; ZIMMERMANN et al., 1992) demonstrando que a descompressão biliar efetiva promove reversão das alterações histológicas do fígado e reversão da hipertensão portal (BLUMGART, 1978; BUNTON; CAMERON, 1963; YEONG; NICHOLSON; LEE, 1982).

As derivações biliodigestivas são frequentemente empregadas para tratar a obstrução biliar e podem ser realizadas com o duodeno (papiloesfincteroplastia e anastomose bilioduodenal) ou com o jejuno (anastomose biliojejunal) (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000). A escolha da modalidade da derivação a ser empregada nas obstruções biliares depende da natureza da afecção, das características anatômicas, da idade e das condições gerais do paciente (UCHIYAMA et al., 2003).

A derivação bilioduodenal (DD) é mais fisiológica e tecnicamente mais fácil e rápida de ser realizada (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000). Além disso, permite o acesso da via biliar à exploração endoscópica (PANIS et al., 1993). No entanto esta modalidade técnica facilita o refluxo enterobiliar, o acúmulo de resíduos alimentares no colédoco distal, obstrução transitória e colangite ascendente (MORACA et al., 2002; STEFANINI et al., 1975; VOGT; HERMANN, 1981). Por outro lado, se a anastomose é ampla e sem estenoses não impedindo o livre fluxo de bile, a presença de restos alimentares no colédoco distal será intermitente e não propiciará sintomas (MADDEN et al, 1970). O risco de colangite após DD está relacionado a processos obstrutivos e varia entre 0 e 6% (PANIS et al., 1993).

Na derivação biliojejunal (DJ) a presença de uma alça jejunal exclusiva, entre a via biliar e o jejuno, previne o refluxo biliar e, em tese, pode minimizar a incidência de colangite (MATTHEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993). No entanto é uma operação tecnicamente mais complexa e que pode dificultar o acesso à via biliar por meios endoscópicos. Além disto, a exclusão de um segmento de alça jejunal do trânsito intestinal propicia o aparecimento de distúrbios motores promovendo estase e colangite (DUCROTTE et al., 1991; KLAUS et al., 2001, 2003). Aproximadamente 10 a 15% dos pacientes submetidos a DJ desenvolvem colangite pós-operatória e “*sump syndrome*” (BISMUTH et al., 1978) Na ausência de obstáculos mecânicos a colestase e a proliferação bacteriana podem ser atribuídas ao distúrbio da motilidade da alça de Roux (KLAUS et al., 2001).

A recuperação histológica e funcional do fígado parece estar relacionada com a fisiopatologia das anormalidades desenvolvidas na obstrução biliar, o tipo de derivação empregada e o tempo de acompanhamento após a drenagem biliar (SANTOS et al, 1996b; ZIMMERMANN et al, 1992).

O registro de restos alimentares ocupando as vias biliares de ratos com DD, por vezes formando tricobezoares, reforça o conceito amplamente difundido de que a DD facilita o refluxo enterobiliar. Na avaliação do efeito das derivações bilioduodenal e biliojejunal com alça exclusiva de 5 cm, em ratos com 5 semanas de obstrução biliar demonstrou-se que o desempenho da DJ na recuperação das lesões da arquitetura hepática foi melhor, mediante registro quantitativo da regressão da proliferação ductal e da fibrose. Nesse estudo constatou-se a contaminação bacteriana da bile por germes gram-negativos na maioria dos animais submetidos à derivação biliar e aparecimento de infiltrado inflamatório misto nos espaços portais

de forma mais intensa na DD (SANTOS et al., 1998; DUTRA et al., 2008)

Comparando-se o 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. A DD apresentou melhor desempenho na resolução da fibrose e proliferação ductal em relação às derivações biliojejunais. Por outro lado, a recuperação do peso estimado do baço e dos hepatócitos apenas se normalizaram após DJ e a normalização do consumo de O₂ ocorreu apenas nos animais com DJ de 15 cm, que corresponderia a uma alça de cerca de 40 cm no homem. Foi observado infiltrado inflamatório misto, refluxo enterobiliar e contaminação bacteriana da bile em todas as formas de tratamento. Os autores consideraram que as derivações biliojejunais, principalmente aquelas que mantem o fluxo de alimentos mais distante da via biliar, apresentam melhor desempenho no processo de reparação morfológica e metabólica do fígado (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001).

Avaliando-se o fluxo de bile pelo método de cintilografia, Hashimoto e Ohyanagi (2000) demonstraram 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 DD (35±5 min) e 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.

Dutra et al. (2008), em estudo comparativo, observaram que as duas modalidades de derivação promovem o refluxo enterobiliar (REB). Os animais submetidos à DJ apresentaram melhor recuperação histológica do fígado, no entanto em relação aos parâmetros funcionais de cintilografia hepática dinâmica, o T_{max} e o T_{1/2} de eliminação hepática, a DD apresenta melhor desempenho. Os autores concluem que a DD deva ser priorizada, sempre que possível, devido a sua facilidade e simplicidade técnica e não apresentar as complicações inerentes da alça exclusiva em Y de Roux.

A DD em ratos com fibrose biliar secundária resolve a colestase, mas as alterações histológicas do fígado e a hipertensão portal não se revertem (FRANCO et al., 1979). Em condição semelhante de lesão hepática, após DJ, há registros de normalização da excreção hepática, com regressão das alterações histológicas do fígado e dos níveis de pressão portal (ZIMMERMANN 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., 2008), ao crescimento bacteriano, à colangite e à fibrose hepática (DUCROTTE et al., 1991; HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005; KLAUS et al., 2001).

Uma alternativa cirúrgica para minimizar tanto o contato do conteúdo entérico com a via biliar quanto à estase decorrente dos distúrbios motores da alça de Roux é a sua anastomose ao duodeno: descompressão jejunoduodenal (DJD) (HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005; TAKAHASHI; YSHIKAWA; KOTOURA, 1999). Hashimoto, Kotoura e Ohyanagi (2005) em estudo clínico demonstraram fluxo biliar mais fisiológico na DJD, avaliado pela cintilografia, bem como menor incidência de colangite clínica em comparação com DD.

Isto posto, 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 e apresentam resultados conflitantes. A presença do REB na DD e os distúrbios motores existentes na DJ podem ocasionar estase, proliferação bacteriana e colangite, o que justifica a avaliação de modalidades de tratamento que proporcionem a reparação das lesões hepáticas decorrentes da obstrução biliar crônica, sem os efeitos colaterais da estase e do refluxo enterobiliar.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A obstrução biliar extra-hepática pode ser ocasionada por litíase biliar, estenoses de origem inflamatória e traumática, compressões extrínsecas e tumores da via biliar, da papila, do pâncreas e do duodeno. A colestase crônica pode evoluir para fibrose e cirrose biliar, hipertensão portal e falência hepatocelular. Em uma série de necrópsias, a cirrose biliar secundária foi encontrada em 8,6% dos pacientes com obstrução biliar extra-hepática crônica (GIBSON; ROBERTSON, 1939).

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.

O quadro histopatológico de fibrose biliar secundária é caracterizado pelo aparecimento da proliferação dos canalículos biliares, do desenvolvimento de fibrose e da presença de infiltrado mononuclear nos espaços portais. Neste estágio da doença, há preservação das relações vasculares entre o espaço porta e a veia hepática. A persistência do quadro obstrutivo induz à fragmentação do parênquima hepático e o surgimento de nódulos parenquimatosos, caracterizando, assim, a cirrose biliar secundária (FRIEDMAN, 1993).

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 (ABDEL-AZIZ et al., 1990; DUTRA et al., 2008; 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). Ainda é controverso se este modelo de obstrução biliar causa “cirrose biliar” verdadeira. O termo “cirrose” é empregado devido à desorganização da estrutura acinar ocasionada pela proliferação ductal e do tecido conectivo. Todavia, existem dúvidas se tais nódulos representam verdadeiros nódulos regenerativos, de tal forma que o termo “fibrose biliar” parece mais adequado (ZIMMERMANN et al., 1992).

Os ratos submetidos à dupla ligadura da via biliar, até o 40º dia de colestase, apresentam proliferação ductal intensa, predominantemente interlobular com preservação do parênquima hepático. Alguns animais apresentam proliferação ductal ao acaso, que se difunde entre os lóbulos com separação dos hepatócitos em pequenas ilhas. Ainda, há animais em que 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).

A proliferação ductal precede o processo inflamatório, que é acompanhado pela replicação e ativação das células estreladas, as quais passam a secretar grande quantidade de matriz extracelular. Estas alterações, inicialmente restritas ao espaço portal, progridem em direção aos lóbulos do fígado formando os septos fibrosos (CLÉMENT et al, 1993; FELDMANN, 1995).

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 descompasso entre a recuperação histológica e a reparação do fluxo portal (ARONSON et al., 1993; KRÄHENBÜHL; SHAFNER; KRÄHENBÜHL, 1998; ZIMMERMANN et al., 1992).

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).

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 (GALL; BATHAL, 1990; GROSS et al., 1987).

Durante o desenvolvimento da fibrose/cirrose, 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). Além da deposição de colágeno no espaço de Disse, o edema dos hepatócitos, a hiperplasia e a contração dos processos dentríticos das células estreladas colaboram com o retraimento do leito sinusoidal e aumento da resistência vascular intra-hepática (KAWADA et al., 1993; SHIBAYAMA; NAKATA, 1989).

A ativação das células estreladas (CE), a partir da diferenciação de uma célula quiescente de estocagem de retinol em miofibroblasto proliferativo, está entre as descobertas mais elucidativas sobre as bases da fibrogênese hepática. No entanto, não pode ser adotado o paradigma de que o total da população das células fibrogênicas hepáticas, assim como as suas vias de ativação são resultados apenas da transformação deste subtipo celular. As células fibrogênicas hepáticas derivam não apenas das CE residentes, mas também dos fibroblastos portais, dos fibrócitos circulantes, da medula óssea e de células de transição epitelial-mesenquimal. Entretanto, a contribuição de cada fonte celular varia em decorrência da evolução da doença e das diferentes etiologias. Os fibroblastos portais parecem ter especial importância nas doenças hepáticas colestáticas e isquêmicas (BEAUSSIER et al., 2007; FORBES et al., 2004; FRIEDMAN, 1993, 2008a; JHANDIER et al., 2005; KISSELEVA et al., 2006; WELLS; KRUGLOV; DRANOFF, 2004; ZEISBERG et al., 2007).

Os estímulos provenientes de espécies reativas do oxigênio, gerados pela peroxidação lipídica, corpos apoptóticos, lipopolissacarídeos e estímulos parácrinos deflagrados dos macrófagos hepáticos, endotélio sinusoidal e hepatócitos promovem a ativação das CE (JAESCHKE, 2006, 2002; PAROLA; ROBINO, 2001). Há indução

do receptor beta do fator de crescimento derivado de plaquetas, desenvolvimento do fenótipo fibrogênico e contrátil, mudanças na matriz extracelular do espaço subendotelial de Disse com deposição de colágeno. A manutenção do estímulo das CE através de citocinas e fatores de crescimento após a ativação inicial contribuem para a geração da fibrose através de mecanismos de proliferação, contração, fibrogênese, degradação da matriz e sinalização pró-inflamatória (FRIEDMAN, 2008a).

As evidências de que a fibrose e até mesmo a cirrose podem ser reversíveis intensificou o interesse no entendimento da degradação da matriz e da resolução da fibrose como vias de terapêutica endógena. As CE hepáticas parecem conter a maioria das moléculas necessárias tanto para a ativação quanto para a inibição da fibrogênese. Os macrófagos também podem atuar de maneira dicotômica na dependência dos diferentes estágios da lesão hepática, ora estimulando a fibrogênese, ora promovendo a degradação da matriz extracelular (DUFFIELD et al., 2005; FALLOWFIELD et al., 2007; FIBBI et al., 1999; KNITTEL; FELLMER; RAMADORI, 1996; MURPHY et al., 2002; RODERFELD et al., 2006; YOSHIJI et al., 2002; ZHANG et al., 1999).

Na prática clínica, a fibrose e a cirrose biliar secundária são, freqüentemente, consideradas como estágio final e irreversível da lesão hepática (FRIEDMAN, 1993). Por outro lado, há registros clínicos (BLUMGART, 1978; BUNTON; CAMERON, 1963; YEONG; NICHOLSON; LEE, 1982) e experimentais (ABDEL- AZIZ et al., 1990; ARONSON et al., 1993; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al. 1998; ZIMMERMANN et al., 1992) demonstrando que a descompressão biliar efetiva promove reversão das alterações histológicas hepáticas. As recuperações histológica, excretora e funcional do fígado parecem estar relacionadas ao tempo e a intensidade das anormalidades decorrentes da obstrução biliar, a presença de hipertensão portal, ao tipo de derivação biliar empregada e ao tempo de seguimento após drenagem biliar (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS, 1997; SIKORA, et al., 2007; ZIMMERMANN et al., 1992).

O tratamento cirúrgico considerado efetivo para obstrução biliar por hepaticolitíase e neoplasia associada à cirrose biliar secundária, produz alívio clínico da colestase. Todavia, cerca de 25% dos pacientes permanecem com testes anormais de função hepática e desenvolvem ascite. A hipertensão portal persiste 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 (LEEVY; DVORSCHACK; GNASSI, 1954).

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 sobrevida em comparação à descompressão porto-sistêmica (ADSON; WHYCHULLIS, 1968).

Hammel et al. (2001) acompanharam a evolução da fibrose biliar, por meio de estudo histopatológico do fígado antes e depois da drenagem biliodigestiva, 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 hepaticojejunostomia. 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 biópsias realizadas com intervalo médio de 2,5 anos (variação de 0,3 a 9 anos) 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.

Sikora et al. (2007), avaliaram 71 pacientes submetidos à hepaticojejunostomia em consequência de estenose biliar pós-colecistectomia. Treze pacientes (18%) apresentavam cirrose biliar secundária e os demais apenas fibrose hepática, havendo associação entre o tempo de obstrução biliar (270 semanas no grupo cirrótico comparado com 90 semanas no grupo não cirrótico) e a incidência de hipertensão portal (6/13 no grupo cirrótico comparado a 2/13 no grupo não cirrótico) com a gravidade da alteração histológica hepática. A evolução clínica desfavorável, caracterizada por dor e colangite, foi mais freqüente no grupo cirrótico. A biópsia de controle foi realizada em 5 pacientes e revelou regressão da fibrose em 2 pacientes, manutenção em 2 e progressão em 1 paciente. Houve, nestes pacientes, melhora do padrão de colestase e da inflamação portal/periportal. Os autores concluem que há associação entre o tempo de colestase e o grau da fibrose hepática e que a

drenagem adequada da obstrução biliar pode reverter as alterações histopatológicas do fígado.

Os procedimentos endoscópicos e cirúrgicos têm sido utilizados para promover a desobstrução da via biliar. A escolha da modalidade da derivação a ser empregada nas obstruções biliares depende da natureza da afecção, das condições técnicas disponíveis, da idade e das condições gerais do paciente, sendo mais importante a experiência do cirurgião do que a patogênese da doença tratada (SANTOS et al., 2005; UCHIYAMA et al., 2003). Dentre eles, os mais frequentemente empregados são as derivações biliodigestivas que podem ser com o duodeno (papiloesfincteroplastia e anastomose bilioduodenal) ou com o jejuno (anastomose biliojejunal) (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000). Após a derivação biliodigestiva pode ocorrer proliferação bacteriana, refluxo enterobiliar e colangite em até 22% dos pacientes (PLAISIER et al., 2001).

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 derivação bilioduodenal (DD) o conteúdo entérico do duodeno pode refluir para a via biliar e, possivelmente, resultar em colangite. Por outro lado, na derivação biliojejunal (DJ) a alça exclusiva, presumivelmente, previne o refluxo enterobiliar e, em tese, pode minimizar a incidência de colangite ascendente (DUTRA et al., 2008; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001).

A DD tem sido utilizada em pacientes idosos, reservando-se a DJ para pacientes jovens com expectativa de vida de 10 anos ou mais (ESCUDERO-FABRE et al., 1991), ou no tratamento de lesões próximas ao hilo-hepático (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000; MATTHEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993). Em contrapartida, Panis et al. (1993) relataram que a DD deve ser empregada sempre que possível, inclusive em pacientes jovens e com doença benigna.

A DD foi descrita por Sprengel no século XIX, tendo sido utilizada por Walters & Kelly em 1953, como procedimento de escolha na reconstrução da via biliar após lesões traumáticas, iatrogênicas ou estenoses benignas. É mais fisiológica e tecnicamente mais fácil e rápida 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 maior flexibilização da sua indicação no tratamento da obstrução biliar.

A DJ é tecnicamente mais trabalhosa, além de dificultar o acesso da via biliar, após a cirurgia, por meios endoscópicos. Na observação clínica de curto e longo prazo, não houve diferença de resultados entre DD e DJ em relação à incidência de colangite (PANIS et al., 1993).

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).

As duas principais objeções à coledocoduodenostomia são as possibilidades de desenvolvimento de “*sump syndrome*” e colangite de repetição. É postulado que litíase, barro biliar e restos alimentares se depositem no “pouch” cego do ducto biliar comum e acarrete no desenvolvimento de colangite, icterícia e pancreatite. Todavia, há a descrição de poucos pacientes com “*sump syndrome*” e muitos autores não conseguiram identificar tais condições clínico-patológicas (HUGUIER et al., 1985; MADDEN et al., 1970; VOGT; HERMANN, 1981)

Em estudo retrospectivo de 113 pacientes submetidos à derivação biliodigestiva (49 coledocojejunostomia e 64 coledocoduodenostomia), foi observado maior incidência de colangite (0 vs 6,4%), complicações relacionadas ao procedimento (1,9% vs 28,6%) e maior mortalidade (4,7% vs 12,2%) no grupo submetido à coledocojejunostomia. Apesar de esta série comparar grupos não homogêneos, concluiu-se que a coledocoduodenostomia é uma opção cirúrgica adequada às obstruções do trato biliar devido à sua relativa facilidade técnica, e apesar da existência de refluxo do conteúdo duodenal para o interior do trato biliar, o risco do desenvolvimento de colangite é pequeno (BLANKENSTEIJN; TERPSTRA, 1990).

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, um terço dos casos apresentam anastomoses bilioentéricas aparentemente amplas, avaliadas por meio de exames radiológicos e procedimentos cirúrgicos (MATTHEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993). Há indícios de que este fenômeno possa decorrer da

obstrução parcial intermitente, particularmente na DD, 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). Entretanto, se a anastomose é ampla e sem estenoses, a presença de restos alimentares no colédoco distal será intermitente e não propiciará sintomas. O risco de colangite recorrente está relacionado a processos obstrutivos variando entre zero e 10% na DD e entre 4,3 a 12% na DJ em algumas séries (BLANKENSTEIJN; TERPSTRA, 1990; HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000; PANIS et al., 1993).

Assim, há autores que adotam a DJ com alça exclusiva de Roux como forma de minimizar os efeitos do refluxo enterobiliar (MATTHEWS; BAER; SCHWEIZER, 1993). No entanto, aproximadamente 10 a 15% dos pacientes submetidos a este tratamento sofrem de 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).

Em estudo clínico, comparando a evolução de 8 pacientes submetidos à DJ e 5 tratados mediante DD 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 DJ. O fluxo de bile avaliado pelo método de cintilografia demonstrou estase de bile na alça de Roux, com retardo significativo do fluxo de biliar até o jejuno proximal (65 ± 5 min), em comparação ao tratamento com DD (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. A DD é mais fisiológica e apresenta menor índice de complicações que a DJ, desde que seja uma anastomose ampla e que permita um fluxo adequado de bile para o intestino (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000).

Santos et al. (1996a) observaram que a reparação da arquitetura hepática, em ratos com cirrose biliar secundária após a DD ocorreu em 70% dos animais e as alterações bioquímicas e hematimétricas normalizaram-se após um mês da desobstrução. Nos 30% dos animais restantes, observou-se recuperação parcial da arquitetura hepática, com fibrose hepática residual e infiltrado inflamatório. Nestes animais foram encontrados restos alimentares ocupando a anastomose

bilioduodenal formando tricobezoares, mesmo em anastomoses amplas. Os autores concluíram que o REB propiciou o aparecimento de colangite com influência na recuperação morfofuncional do fígado, reforçando o conceito amplamente difundido de que a DD facilita o refluxo enterobiliar (SANTOS, 1993), 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).

Estudo em ratos, com obstrução biliar e fibrose biliar secundária, tratados com DD e DJ em Y de Roux, com alças exclusas de 5, 10 e 15 cm, demonstrou melhor desempenho na reparação das alterações histopatológicas do parênquima hepático e na normalização do metabolismo energético do fígado na derivação com alça em Y de 15 cm, que corresponderia a uma alça de cerca de 40 cm no homem. O infiltrado inflamatório misto, o refluxo enterobiliar e a contaminação bacteriana da bile foram observados em todas as formas de tratamento (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001).

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., 2008), à proliferação (VANTRAPPEN et al., 1977) e translocação bacteriana (CHUANG et al., 1998), além de promover a passagem de bactérias pelos hepatócitos, com destruição das junções celulares e o aparecimento de colangite (TOYOTA; MIYAI; HARDISON, 1984), resultando em fibrose hepática (DUCROTTE et al., 1991; HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005; KLAUS et al., 2001). Além disto, a elevação mantida da pressão na via biliar propiciaria uma diminuição do metabolismo energético das mitocôndrias hepáticas (KRAHENBUHL; SCHAFNER; KRÄHENBÜHL, 1998), comprometendo a função hepática e retardando a excreção biliar.

Após o tratamento com DD e DJ em ratos submetidos à obstrução biliar observou-se que a função excretora do fígado avaliada pela cintilografia hepática dinâmica foi melhor na DD. Ambos os tratamentos foram eficazes para a normalização dos marcadores bioquímicos hepáticos. O REB esteve presente nas duas derivações sem diferenças entre elas. Apesar de, na DD não ter ocorrido uma completa recuperação morfológica no fígado, no período de tempo estudado, estas alterações não foram decisivas para prejudicar a excreção hepática. Provavelmente na DD, o REB e a estase na via biliar ocorrem transitoriamente, de forma intermitente e com baixa pressão nos ductos biliares, preservando assim, a excreção

hepatocelular. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as duas modalidades terapêuticas promovem a recuperação da colestase e da lesão hepática, não reproduzindo a teórica vantagem da DJ, em vista do entendimento fisiopatológico da colangite na ausência de estenose da anastomose biliar (DUTRA et al., 2008).

Cerca de 10 a 15% dos pacientes com DJ podem evoluir com síndrome da alça cega e colangite. Estes sintomas podem ser decorrentes das obstruções mecânicas, porém nos casos em que estas complicações são afastadas, a patogênese desta apresentação clínica poderia ser decorrente de um obstáculo funcional oriundo na alça jejunal exclusiva. Tal alça seccionada para a realização do Y de Roux deixa de receber a ação do marca-passo duodenal e a continuidade da propagação da fase III da contração (MIEDEMA et al., 1992). Na seqüência, um novo marca-passo pode desenvolver no meio da alça, mas com baixa freqüência de contrações e às vezes em sentido retrógrado (VANTRAPPEN et al., 1991). As desordens motoras da alça jejunal exclusiva favorecem a estase biliar e o desenvolvimento de colangite (DUTRA et al., 2008; KLAUS et al., 2001)

Com a intenção de minimizar as complicações provenientes da alça exclusiva do Y de Roux foi proposta a sua descompressão por meio de uma anastomose duodenojejunal laterolateral (DJD). Neste estudo clínico observou-se que a colangite ocorreu em 14% dos pacientes submetidos à DJ; em contrapartida nenhum paciente submetido à DJD apresentou sinais de colangite. A cintilografia hepatobiliar demonstrou estase proeminente da bile na alça exclusiva do Y de Roux, assim como atraso significativo do tempo para a visualização do radiofármaco no jejuno proximal nos pacientes submetidos a DJ (DJ – 65 ± 5 min; DJD – 45 ± 5 min; Controle – 40 ± 5 min). Desta forma, os autores concluem que a derivação biliojejunal com anastomose duodenojejunal laterolateral é mais fisiológica, apresenta menor número de complicações pós-operatórias além de permitir o acesso endoscópico à área de anastomose bilio-digestiva e à via biliar intra-hepática (HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005).

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 DD no tratamento da obstrução biliar, sobretudo na abordagem por videolaparoscopia (DUTRA et al., 2008)

Desta forma, ainda há dúvidas acerca do desempenho das diferentes modalidades de derivação biliodigestiva no tratamento das alterações decorrentes da obstrução biliar extra-hepática. Os estudos experimentais avaliando as modalidades de derivação biliar são escassos e apresentam resultados conflitantes, o que justifica a avaliação de modalidades de tratamento que proporcionem a reparação das lesões hepáticas decorrentes da obstrução biliar crônica, sem os efeitos colaterais da estase e do refluxo enterobiliar.

3 OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar a influência das três modalidades de derivação biliar no processo de reparação das lesões anatomopatológicas do fígado e do fluxo hepatobiliointestinal de ratos com fibrose biliar secundária.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação em Animais da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) e desenvolvido nos seguintes Laboratórios da mesma Instituição: Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Anatomia, Neuropatologia do Departamento de Patologia, Neurologia Aplicada e Experimental do Departamento de Neurociências e Ciência do Comportamento.

4.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 137 ratos machos adultos de pelagem albina, da linhagem Wistar, e com pesos iniciais variando entre 222 - 346 gramas, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

Os animais foram acondicionados em gaiolas de polipropileno com tampa de metal fenestrada e divisórias para ração e água. A manutenção foi feita mediante agrupamento de cinco animais por gaiola, com ração padrão e água *ad libitum*, em sala com temperatura ambiente e iluminação controladas.

4.1.1 Distribuição e alocação dos animais em grupos e subgrupos:

Após um período de adaptação, os animais foram divididos em 2 grupos, conforme ilustra a figura 1.

- Grupo controle (**CO**): 8 animais
- Grupo com obstrução biliar (**OB**): 33 animais

O grupo **CO**, com 8 animais, foi submetido à coleta de sangue para avaliação bioquímica e retirada de fragmento do lobo inferior esquerdo do fígado para análise histológica. A excreção hepatobiliar foi quantificada por meio de método cintilográfico com o Disida ^{99m}Tc.

O grupo **OB**, formado por 33 animais com 15 dias de obstrução biliar, foi distribuído em quatro subgrupos (**IC**, **DDpre**, **DJpre**, **DJDpre**) com 8 animais cada, à exceção de **DDpre**, composto por 9 animais. O subgrupo **IC** foi submetido a coleta de sangue para avaliação bioquímica, a retirada de fragmento do lobo inferior esquerdo do fígado para análise histológica, além do fluxo hepatobiliointestinal com Disida ^{99m}Tc. Os animais dos subgrupos **DDpre**, **DJpre**, **DJDpre** após 15 dias de

obstrução biliar, foram submetidos a coleta de sangue para avaliação bioquímica, a retirada de fragmento do lobo inferior esquerdo do fígado para análise histológica, e a seguir, submetidos a derivação bilioduodenal, a derivação biliojejunal em Y de Roux e a derivação biliojejunal em Y de Roux com descompressão da alça jejunal excluída através de anastomose com o duodeno, e passaram a ser denominados, respectivamente, de **DD**, **DJ** e **DJD**. Após 2 meses da desobstrução biliar foram realizados os estudos do fluxo hepatobiliointestinal com Disida ^{99m}Tc, além da coleta de sangue para avaliação bioquímica e da retirada de fragmento do lobo inferior esquerdo do fígado para análise histológica.

Delineamento Experimental

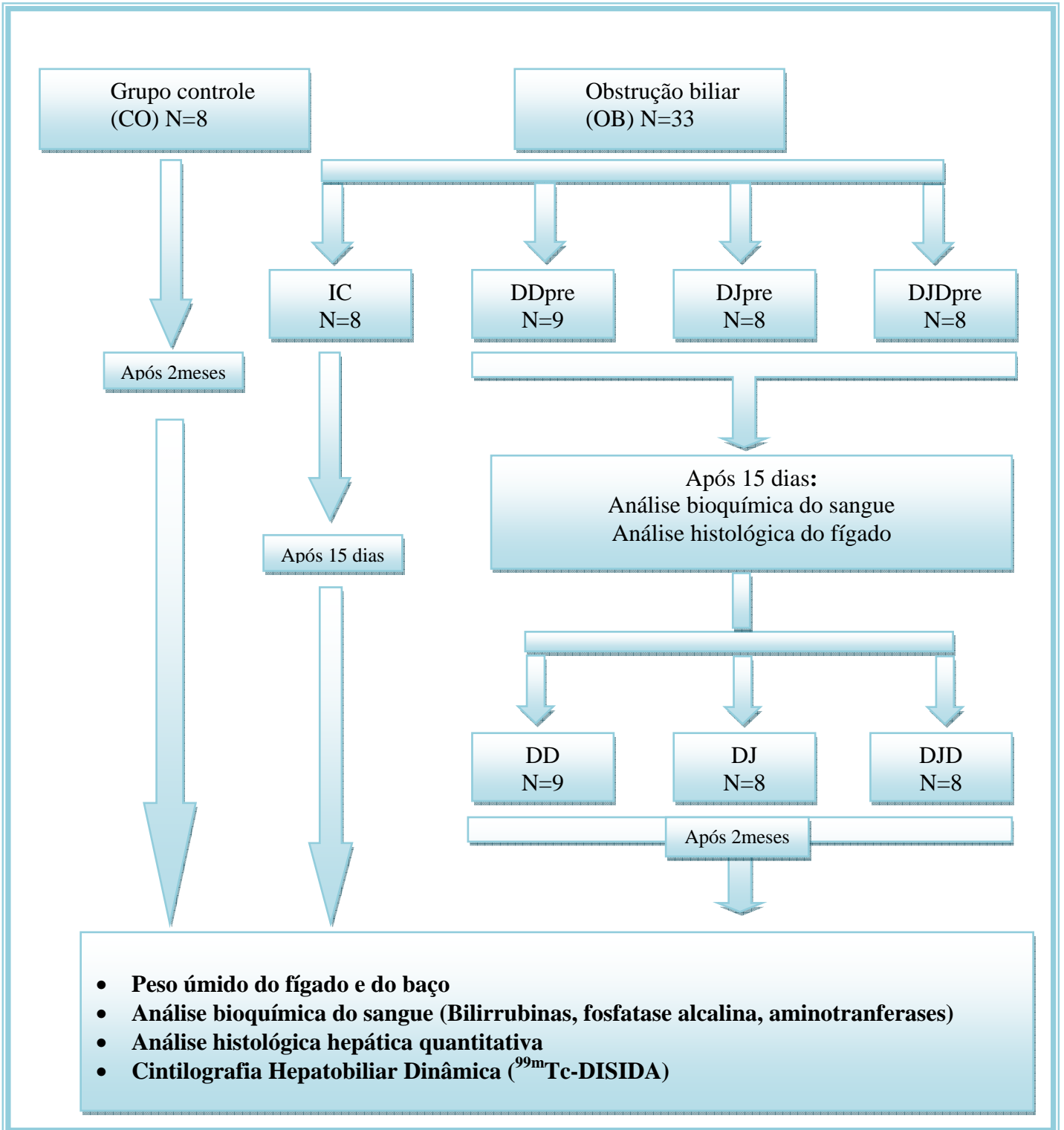


Figura 1 – Delineamento da pesquisa.

4.2 ANESTESIA

O anestésico utilizado foi a combinação de Cetamina (50 mg/Kg) e Xilazina (10mg/Kg) administrados por via intramuscular. Os animais foram mantidos em respiração espontânea, em plano anestésico adequado, para os procedimentos cirúrgicos (ANDERSEN et al., 2004). O tiopental (20 mg/Kg) intraperitoneal foi utilizado para o estudo do fluxo hepatobiliointestinal (BUENO; FERRE; RUCKEBUSCH, 1978)

4.3 TÉCNICA OPERATÓRIA

Cada animal foi pesado, higienizado, anestesiado, posicionado em decúbito dorsal e submetido à tricotomia da parede anterior do abdome. A antisepsia foi feita com solução de polivinil pirrolidona iodo (Dermodine, J.P. Indústria Farmacêutica S.A Ribeirão Preto). O acesso à cavidade abdominal foi feito mediante laparotomia mediana, no abdome superior, com afastamento lateral das bordas da incisão por afastadores delicados. A cavidade peritoneal foi mantida constantemente úmida com solução fisiológica, para se evitar o ressecamento das vísceras.

No grupo CO os animais foram submetidos à operação simulada mediante tração do duodeno e manipulação cuidadosa da via biliar, para se evitar traumas. Após dois meses, foram realizadas as avaliações bioquímicas, histológicas e cintilográficas com Disida.

No grupo OB, após a identificação e exposição do ducto biliar, procedeu-se a ligadura a aproximadamente 5mm de sua bifurcação com fio prolene 5-0 (prolene suture-blue monofilament Ethicon, Inc.). Na sequência, nova ligadura foi feita a 3 mm acima da junção biliopancreática e, entre as ligaduras, realizou-se a transecção da via biliar (LEE, 1972) (figura 2). Após 15 dias, foram realizadas as avaliações bioquímicas, histológicas e cintilográfica com Disida.

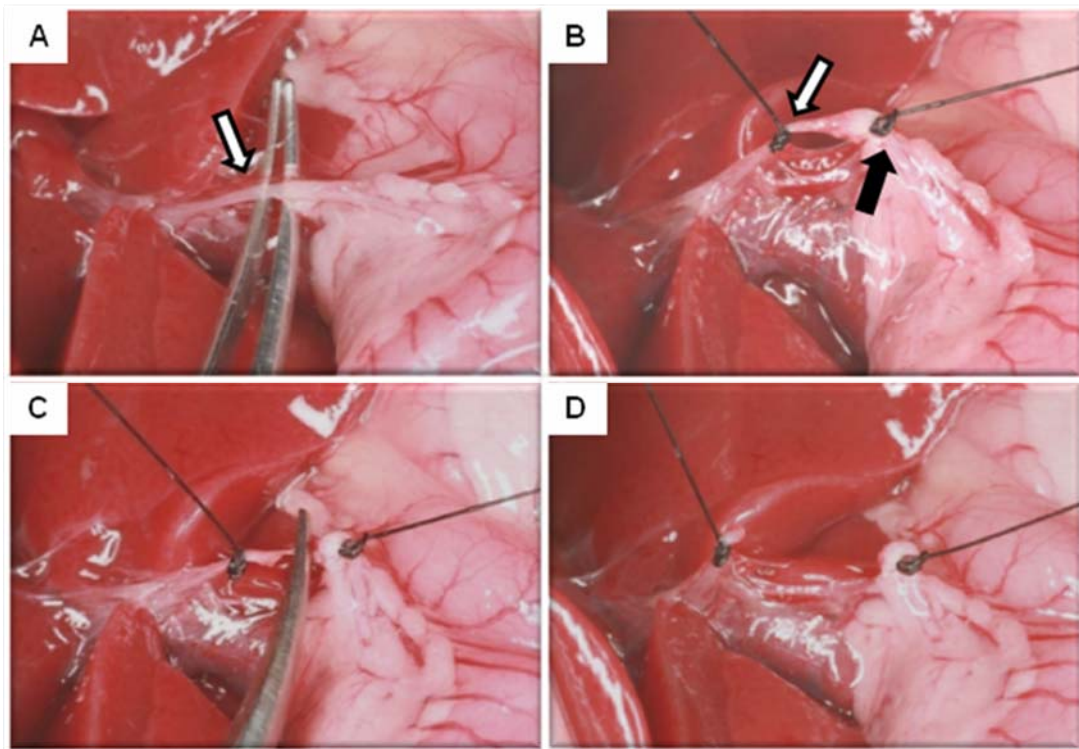


Figura 2 – Ducto biliar (seta vazia) apresentado sobre pinça (A); Ligadura proximal a 5 mm da bifurcação do ducto biliar (seta vazia) e distal a 3 mm da junção biliopancreática (seta cheia) (B); Transecção do ducto biliar entre as ligaduras (C); Coto proximal e distal separados (D)

No grupo DD foi realizada a anastomose entre o ducto biliar dilatado aberto transversalmente e o duodeno aberto longitudinalmente, de forma laterolateral, na extensão de 1 cm. No grupo DJ a anastomose foi feita laterolateral com a alça jejunal seccionada a cerca de 5 cm do ângulo duodenojejunal. A anastomose jejunojejunal, terminolateral, foi realizada a 15 cm da hepaticojejunoanastomose. Todas as anastomoses foram feitas em plano único com pontos contínuos de fio Vicryl 6-0 (figura 3).

Nos animais DJD a anastomose biliodigestiva foi feita laterolateral com alça jejunal seccionada a cerca de 5 cm do ângulo duodenojejunal. Foi confeccionada uma anastomose laterolateral entre a alça jejunal excluída do Y de Roux e a primeira porção duodenal distando 5 cm da anastomose biliodigestiva. A anastomose jejunojejunal foi realizada a 15 cm da hepaticojejunoanastomose (figura 3). Todas as anastomoses foram feitas em plano único com pontos contínuos de fio Vicryl 6-0. No momento das derivações biliodigestivas, previamente à desobstrução biliar, foram realizadas as biópsias hepáticas e as coletas de sangue para os estudos bioquímicos. No fim do experimento, após 2 meses da derivação biliodigestiva,

realizou-se a cintilografia de fluxo hepatobiliointestinal com Disida ^{99m}Tc . Uma semana após o estudo cintilográfico, os animais dos grupos DD e DJ e DJD foram submetidos a laparotomia para esplenectomia e coleta de sangue da veia cava para análise bioquímica. Na seqüência, procedeu-se à remoção do fígado para análise histológica e, por fim, à eutanásia dos animais.

A síntese da parede abdominal foi realizada de modo idêntico em todos os animais. O peritônio e a aponevrose foram suturados em bloco com chuleio contínuo de nylon monofilamentado 4.0 e a síntese da pele foi feita da mesma maneira. No pós-operatório, todos os animais foram mantidos em gaiolas isoladas por 24 horas e alimentados com ração padrão e água *ad libitum*.

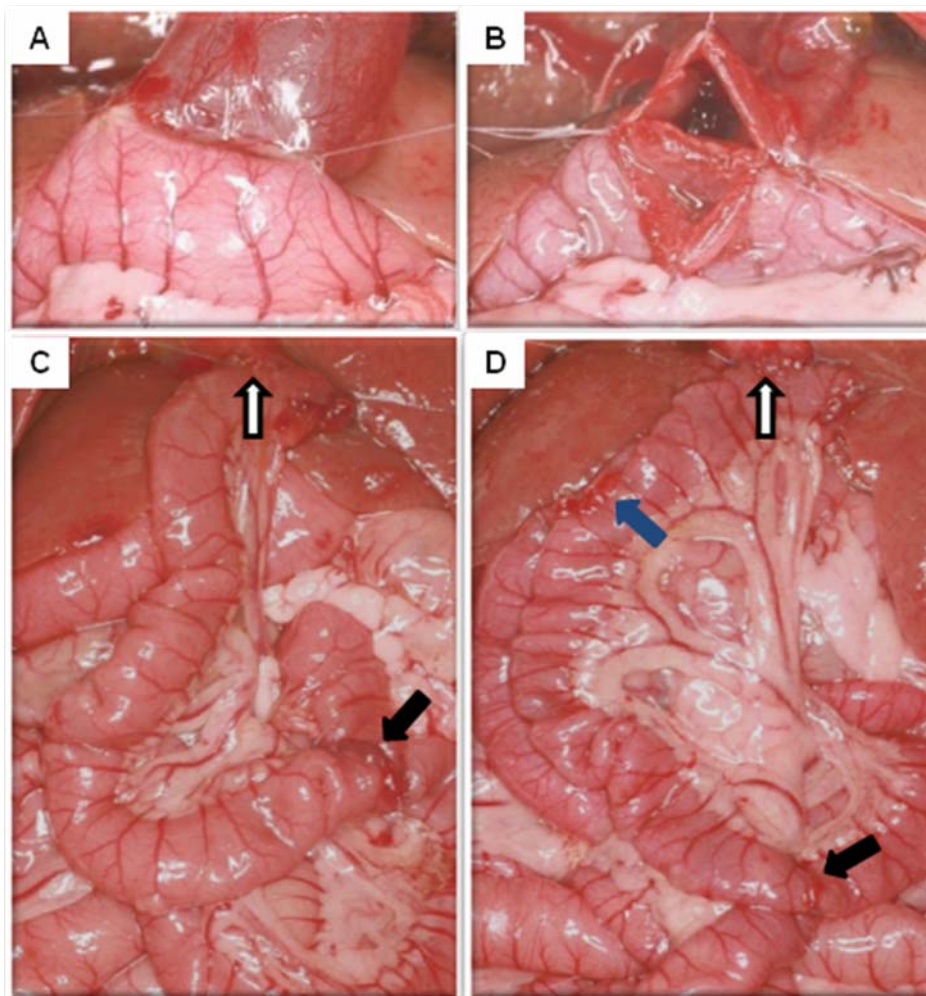


Figura 3 – **A e B** – Derivação bilioduodenal: Aproximação da via biliar dilatada com o duodeno (A), seguida de abertura da via biliar, do duodeno e anastomose do plano posterior (B)
C – Derivação biliojejunal em Y de Roux: A seta vazia indica a anastomose biliar e a seta cheia, a anastomose jejunojejunal terminolateral
D – Derivação biliojejunal com descompressão da alça jejunal excluída: A seta vazia indica a anastomose biliar, a seta azul a anastomose duodenojejunojejunal laterolateral e a seta cheia a anastomose jejunojejunal término-lateral.

4.4 BIOQUÍMICA DO SANGUE

4.4.1 Coleta do sangue

Dos animais foram colhidos aproximadamente 1 ml de sangue mediante a punção da veia cava, sob anestesia. O sangue foi depositado em tubo de ensaio sem anticoagulante e, após a retração do coágulo, o soro foi separado por centrifugação à 3000 rpm por 10 minutos para avaliação bioquímica. Para a reposição da perda sanguínea, uma veia da cauda foi puncionada com butterfly nº 26, sendo então, infundido um volume 3 ml de soro glicofisiológico a 5%.

4.4.2 Dosagens no soro

Birrubinas totais e frações: dosagem pelo método de **Sims e Horn** (1958); Kits Labtest Diagnóstica S.A.

Fosfatase Alcalina: dosagem pelo método de **Roy** (1970); Kits Labtest Diagnóstica S.A.

Alanina aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST): dosagem pelo método de **Henry et al.** (1960); Kits Labtest Diagnóstica S.A.

4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA DO FÍGADO

Os fragmentos de fígado removidos foram fixados por imersão em formol tamponado a 10% por 24 horas e após, passaram por desidratação progressiva (bateria de álcool: 50%, 70%, 80%, 90%, 95% até atingir álcool absoluto). Em seguida foi realizada diafanização em xilol e inclusão em blocos de parafina. Os cortes histológicos foram preparados por microtomia, a 4 µm, e corados por Tricômico de Masson.

Para identificação das células estreladas, foram realizados cortes histológicos a 3 µm, submetidos a reações imunohistoquímicas com anticorpo monoclonal anti-desmina, de rato, liofilizado (IgG1, NCL-DES-DER11, Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle, UK), de acordo com as especificações do fabricante.

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 “*overnight*”, em câmara úmida, à temperatura ambiente. Após lavagem com *Phosphate Buffered Saline* (PBS), os cortes foram incubados por 30 minutos com o ativador da penetração do polímero (RE 7159 Post Primary Block, NovoLink Max Polymer, Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle, UK). Após 3 lavagens com PBS, os cortes foram incubados com o polímero Poli IgG de anti-rato/coelho (RE 7161 NovoLink Polymer, NovoLink Max Polymer, Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle, 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 contra-corados 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 à câmera digital (Sony). As imagens foram transferidas para um computador através de placa de captura de imagens *Frame Grabber*® (Zeiss) e 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 (figura 4).

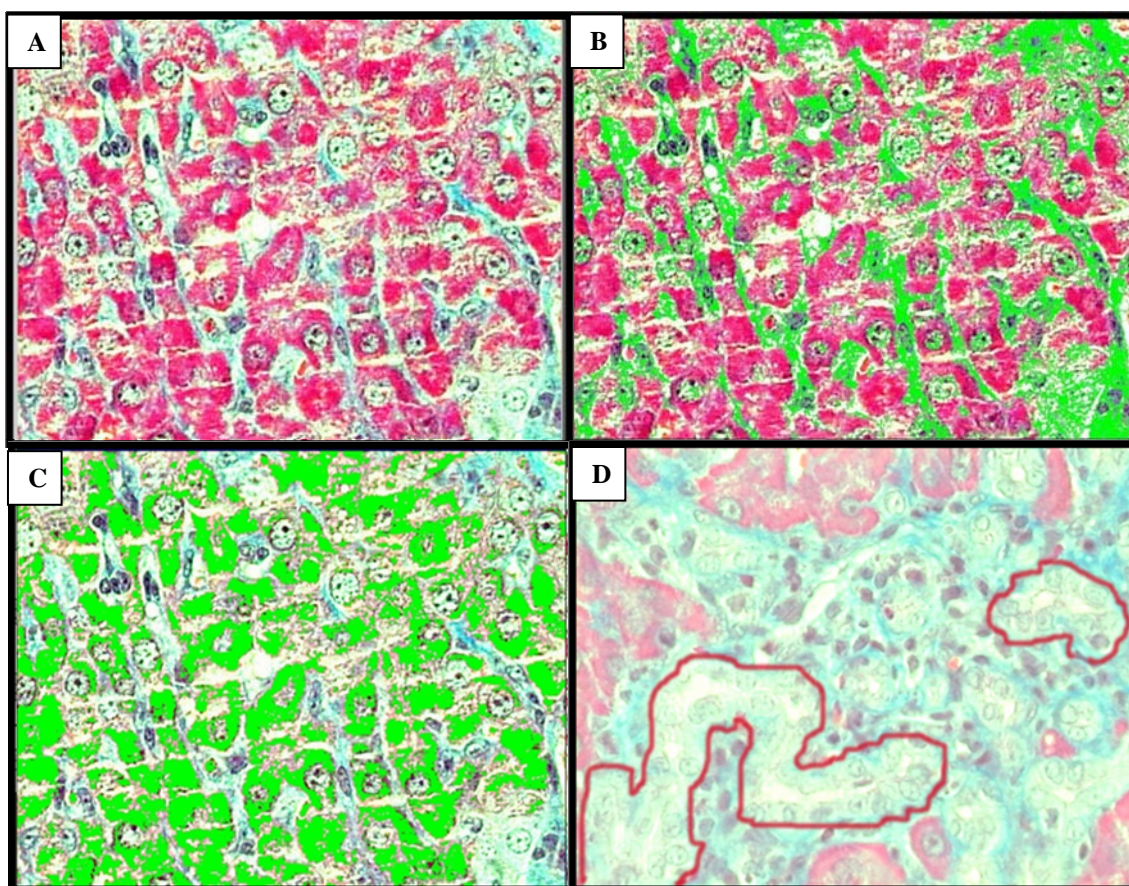


Figura 4 – Representação da determinação da área de fibrose e hepatócitos utilizando a função de segmentação por camada de cor. Em (A) observa-se os hepatócitos corados em vermelho e a fibrose em azul. Empregando o recurso Limiar, em (B), a fibrose foi marcada em verde para mensuração de sua área. Em (C) os hepatócitos são marcados em verde para mensuração de sua área. Os ductos são marcados e circundados em sua camada mais externa de forma que o sistema contabilize a área de cada ducto e o número deles (D)

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 100 campos de cada lâmina, equivalente a 2,8 mm² de área. Para cada corte histológico, o programa de computador selecionou, aleatoriamente, 30 campos para a análise morfométrica (figura 5).

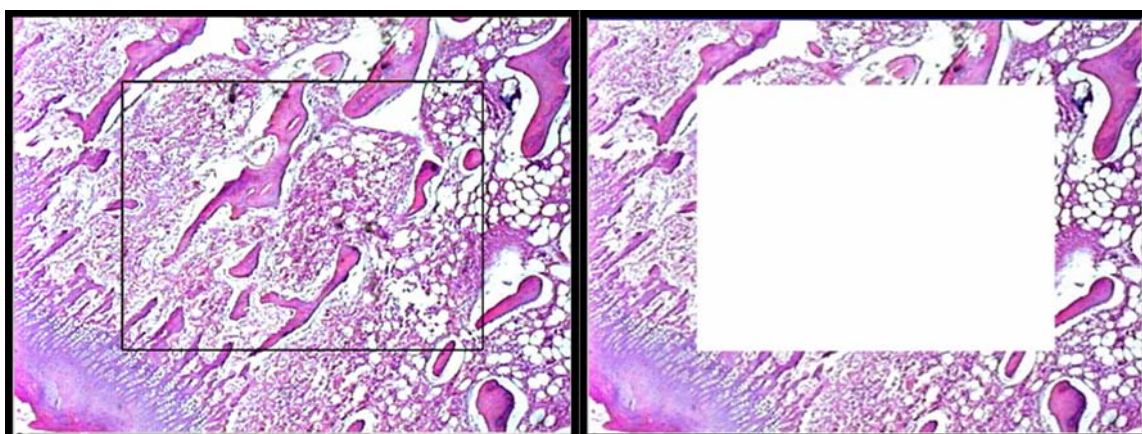


Figura 5 – Representação da área de interesse de 2,8 mm² por onde a platina motorizada desloca-se de maneira automática, adquirindo imagens de aumento maior (256X). Foi captado um total de 100 imagens por quadro

A fração de volume, em percentagem, 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 (CE) 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 256 vezes. A escolha das áreas para a contagem das CE na zona metabólica hepática 1 (figura 6) foi feita de forma interativa e independente, com auxílio do *software* KS 400®. Os resultados foram expressos mediante a soma do número de células estreladas em cada um dos 30 campos obtidos de cada lâmina.

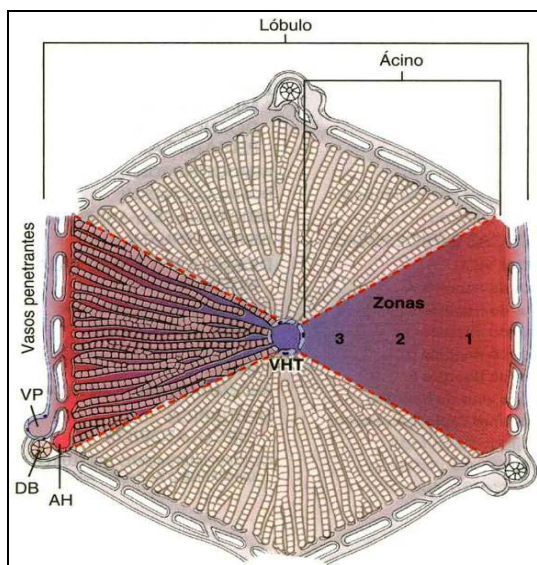


Figura 6 - Esquema da arquitetura hepática microscópica evidenciando as zonas metabólicas hepáticas: 1, 2 e 3. (VHT: vênula hepática terminal; AH: artéria hepática; DB: ducto biliar; VP: veia porta). Fonte: Cotran et al., 1999

4.6 QUANTIFICAÇÃO DA FUNÇÃO EXCRETORA HEPÁTICA E DA PERMEABILIDADE DA VIA BILIAR COM DISIDA^{99m}Tc

Com a utilização do DISIDA^{99m}Tc pode-se avaliar a capacidade de excreção do hepatócito para a via biliar e a presença deste radiotraçador no intestino delgado (BALON et al., 1997). Na cintilografia hepatobiliar dinâmica os parâmetros mais frequentemente empregados são o tempo de atividade hepática máxima (TMax) e o tempo para eliminação de cinquenta por cento do elemento radiativo captado pelo fígado ($T^{1/2}$), através da curva de atividade/tempo.

A razão 20min/Max é calculada utilizando-se da curva atividade/tempo e representa a atividade residual hepática do radiofármaco, indiretamente avaliando a excreção biliar e o nível de colestase. Utiliza-se também, o tempo de aparecimento do elemento radiativo no intestino delgado que é avaliado visualmente, por isso, menos sensível.

4.6.1 Aparelhagem

Para a determinação da dose do radiotraçador é utilizado um contador MICRO CURIE METER, modelo XL 1011, PHILLIPS. No estudo da excreção

hepática e do fluxo hepatobiliointestinal é utilizada uma câmara de Cintilação SOPHA DST COLIMADOR LEAP, Illinois, USA, em modo dinâmico, para contagem da radiação.

4.6.2 Radiotraçador

O isótopo empregado é o Tecnécio (^{99m}Tc) obtido a partir de um gerador de Molibdênio fornecido pelo Instituto de Pesquisa em Energia Nuclear (IPEN- São Paulo). A dose de 185 MBq (5mCi) do radioisótopo é combinada com 10mg de DISIDA (N alfa 2,6 diisopropil acetanilina do ácido iminodiacético) e 0,3 mg de cloreto estanhoso bihidratado, em forma liofilizada, sob alto vácuo (DISIDA ^{99m}Tc - IPEN – São Paulo).

4.6.3 Técnica

É baseada na descrita por Smith et al. (1978) que avaliaram a farmacocinética de diferentes radiofármacos em estudos de cintilografia hepatobiliar em ratos.

Os exames foram realizados após dois meses de pós-operatório nos animais tratados. Os ratos foram separados e mantidos sem ração, nas vinte e quatro horas anteriores e sem ração e líquidos, nas doze horas que precederem o estudo. Após pesagem e anestesia com Tiopental intraperitoneal, os animais foram submetidos à dissecação da veia jugular interna com o posicionamento de um cateter fino (cateter umbilical 3,6 Fr x 41cm Becton-Dickinson), pelo qual foi injetado o radiotraçador. Imediatamente, foi iniciado o estudo dinâmico, com fase de fluxo sanguíneo, durante 1 minuto (registro a cada 2 segundos) e fase funcional, durante 30 minutos (registro a cada 15 segundos) com áreas de interesse no coração, fígado, vias biliares e no intestino delgado. O tempo de atividade hepática máxima (T_{Max}) e o tempo de excreção da metade do radiofármaco pelo parênquima hepático (T_{1/2}), com exclusão das áreas de atividade intestinal, foram avaliados através da curva atividade/tempo do radiotraçador no fígado. O tempo de surgimento da bile radiativa no intestino delgado foi interpretado por um examinador que não conhecia os tratamentos, utilizando-se de imagens estáticas.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi realizada uma análise exploratória dos dados. Para se atingir o objetivo das situações em que o estudo requer a verificação de dependência entre os períodos, foi proposto um modelo de efeitos mistos. 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 (LITTEL et al., 1996; SCHALL, 1991). Esses modelos têm como pressuposto que seus resíduos tenham distribuição normal com média 0 e variância σ^2 . Foi utilizado o procedimento PROC MIXED do software SAS, versão 9 (SAS INSTITUTE, 2002).

Nas situações em que a dependência entre os animais não está presente, um modelo de ANOVA foi aplicado, através do PROC GLM do software SAS, versão 9 (MONTGOMERY, 2000).

Para se comparar os grupos submetidos à cintilografia hepatobiliar dinâmica foram elaborados gráficos de Kaplan – Meyer e ajustados os modelos de riscos proporcionais, propostos por Cox e Oaks (1984), através dos procedimentos LIFETEST e PHREG do software SAS 9.0.

Os resultados obtidos foram expressos em média e mediana nos gráficos e o respectivo desvio padrão foi acrescentado nas tabelas. Os gráficos do tipo “*box plot*” foram elaborados com o programa *Graph Pad Prism 5*. O nível de significância adotado foi de 1%.

5 RESULTADOS

5.1 EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

Cento e vinte e nove ratos foram submetidos à obstrução biliar, 19 (14,7%) animais não desenvolveram sinais de obstrução biliar (icterícia, colúria e dilatação do ducto biliar observada à inspeção do abdômen durante a laparotomia). Sessenta (58,8%) animais, dos 102 submetidos à derivação biliodigestiva, morreram após a cirurgia, a maioria (91%) nas primeiras 24 horas, e os demais em até 48 horas de pós-operatório. Para o presente estudo foram utilizados apenas 25 animais daqueles submetidos à derivação biliodigestiva. Não houve mortalidade no grupo CO e IC.

5.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA E INSPEÇÃO DA CAVIDADE

À macroscopia, o fígado apresentava consistência endurecida e coloração amarelada e o baço estava aumentado, como mostra a Figura 7.

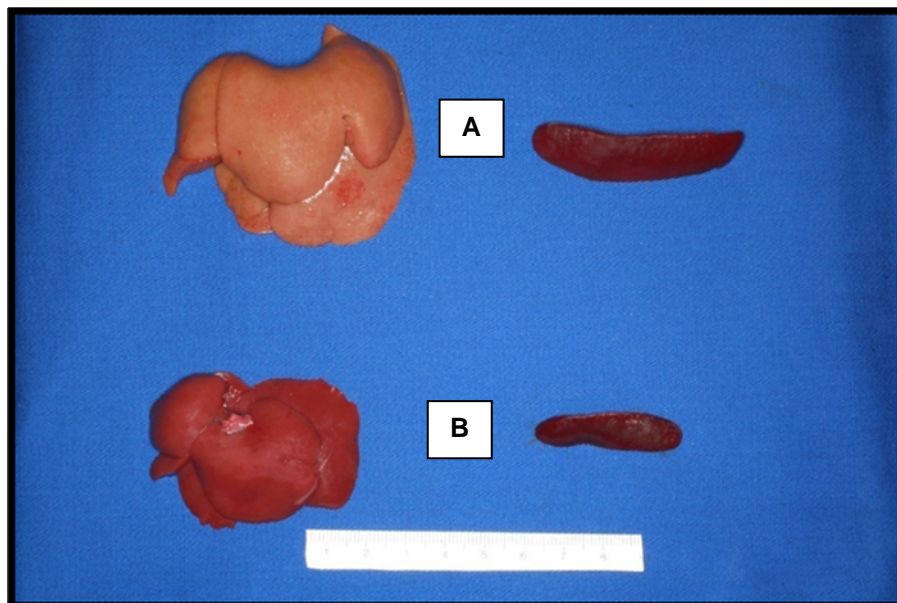


Figura 7 – O conjunto formado pelo fígado e baço de rato submetido a 15 dias de obstrução biliar (A), fígado e baço de ratos submetidos à operação simulada (B)

O ducto biliar extra-hepático, em geral, apresentava dilatação acentuada o que facilitou a execução das anastomoses (Figura 8). O conteúdo do ducto biliar variava de fluido claro a amarelo citrino ou espesso amarelado com grumos.

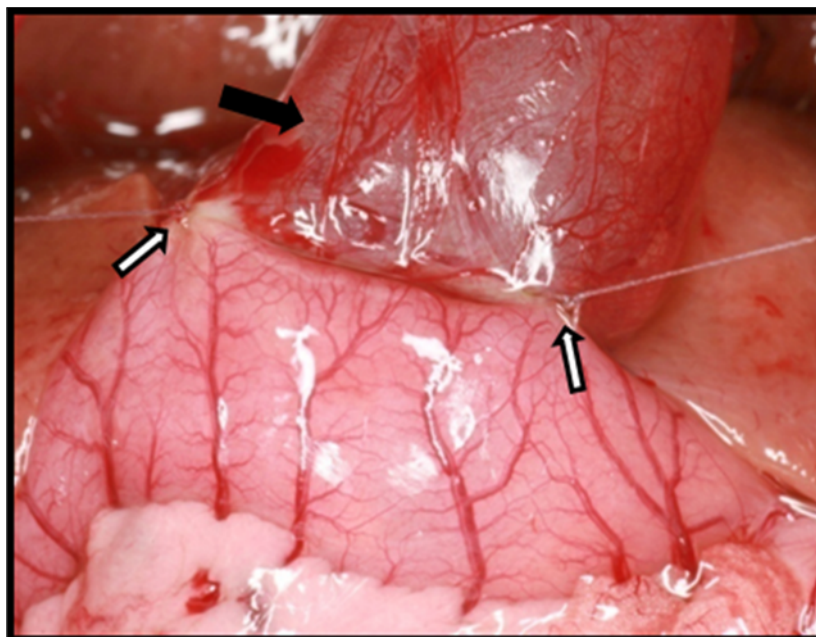


Figura 8 – Via biliar dilatada, com parede translúcida (seta cheia) contendo líquido de conteúdo claro. O duodeno foi reparado com pontos de vicryl 6.0 para a realização da anastomose (setas vazias)

As anastomoses bilioentéricas estavam amplas e p rveas, com aproximadamente 0,5 cm de di metro, em todos os animais.

5.3 AN LISE BIOQU MICA DO SANGUE

5.3.1 Dosagem das bilirrubinas totais e fra es, das aminotransferases e da fosfatase alcalina

O grupo IC apresentou valores de bilirrubinemia direta e total significativamente maiores que os grupos DDpre, DJpre e DJDpre. Os valores de FA foram significativamente maiores no grupo DDpre em compara o com IC, DJpre e DJDpre. Os grupos DDpre e DJpre apresentaram valores de AST significativamente menores que IC e DJDpre. O grupo DJDpre apresentou valores de ALT significativamente menores que IC. Os valores das bilirrubinas totais e fra es, da AST e da fosfatase alcalina nos grupos IC, DDpre, DJpre e DJDpre foram significativamente maiores que os do grupo CO. Ap s DD, DJ e DJD houve redu o significativa dos valores das bilirrubinas totais e fra es, da AST e da fosfatase alcalina em rela o aos animais do grupo IC, DDpre, DJpre e DJDpre. Ap s a DD e

DJ ocorreu redução significativa dos valores de ALT em relação ao grupo IC (tabela 1 e figuras de 9 a 13).

Tabela 1 – Valores bioquímicos médios de bilirrubinas totais (BT, em mg/dl), bilirrubina direta (BD, em mg/dl), bilirrubina indireta (BI, em mg/dl), fosfatase alcalina (FA, em U/ml), alanina aminotransferase (ALT, em U/ml) e aspartato aminotransferase (AST, em U/ml) encontrados nos grupos DDpre, DD, DJpre, DJ, DJDpre, DJD, IC e CO, com seus respectivos desvios-padrões

Grupos	BT	BD	BI	FA	ALT	AST
CO	0,41 ± 0,06	0,09 ± 0,03	0,32 ± 0,06	59,63 ± 6,93	39,5 ± 9,4	123,63± 42,4
IC	8,76± 1,47	5,99± 1,08	2,78± 0,54	206,13±38,79	127,5±86,27	561,63±156,9
DDpre	6,17± 1,22	3,83± 1,19	2,33± 0,46	301,22±109,36	81,11± 34,84	383,78±114,74
DD	0,41± 0,09	0,13±0,1	0,28± 0,08	24,22± 3,23	53,33± 49,15	159,89±90,7
DJpre	6,86± 1,2	4,64± 0,78	2,22± 0,74	193,63± 99,54	60,13± 22,6	348,13±79,38
DJ	0,45± 0,09	0,11± 0,04	0,34± 0,09	28,25± 15,4	43± 25,19	189,38± 38,65
DJDpre	6,74± 1,26	3,9± 1,1	2,84± 1,57	207± 126,79	56,88±10,83	589,13±176,03
DJD	0,56± 0,23	0,14± 0,05	0,43± 0,23	26,25± 10,39	101,5± 78,81	190,5± 86,18

Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos:

BT, BD: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (DDpre, DJpre, DJDpre, DD, DJ, DJD), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

BI: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DD, DJ, DJD), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

FA: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DD, DJ, DJD, DDpre), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD, DDpre vs DJpre, DDpre vs DJDpre

AST: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DDpre, DJpre, DD, DJ, DJD), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD, DDpre vs DJDpre, DJpre vs DJDpre

ALT: CO vs IC, IC vs DJDpre, DD vs IC, DJ vs IC

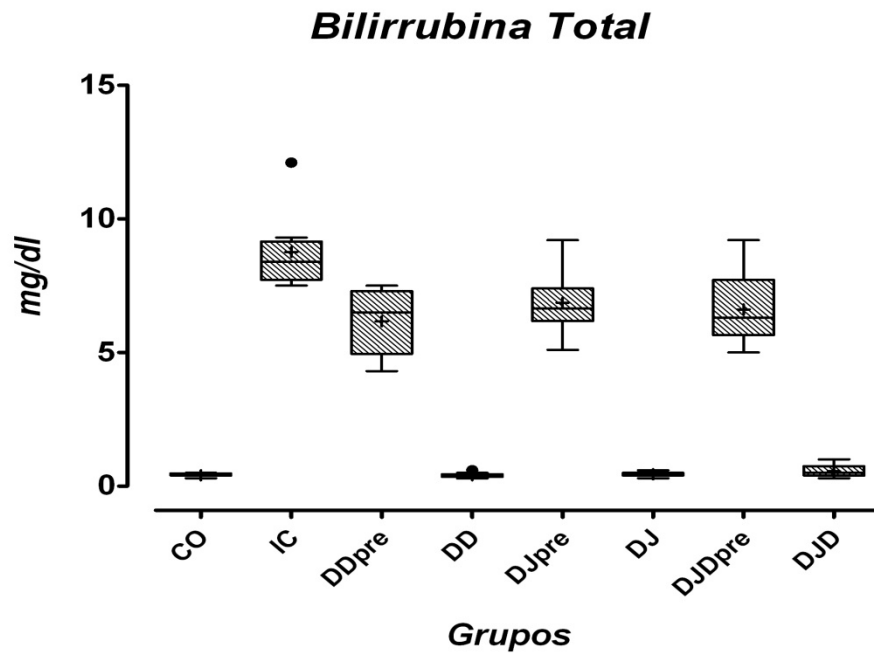


Figura 9 - Representação dos valores séricos de Bilirrubina Total (BT), em mg/dl, dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a decompressão bilioduodenal (DD), decompressão biliojejeunal (DJ) e decompressão biliojejeunal com decompressão da alça exclusa (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
 Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DDpre, DJpre, DJDpre, DD, DJ, DJD) e, DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

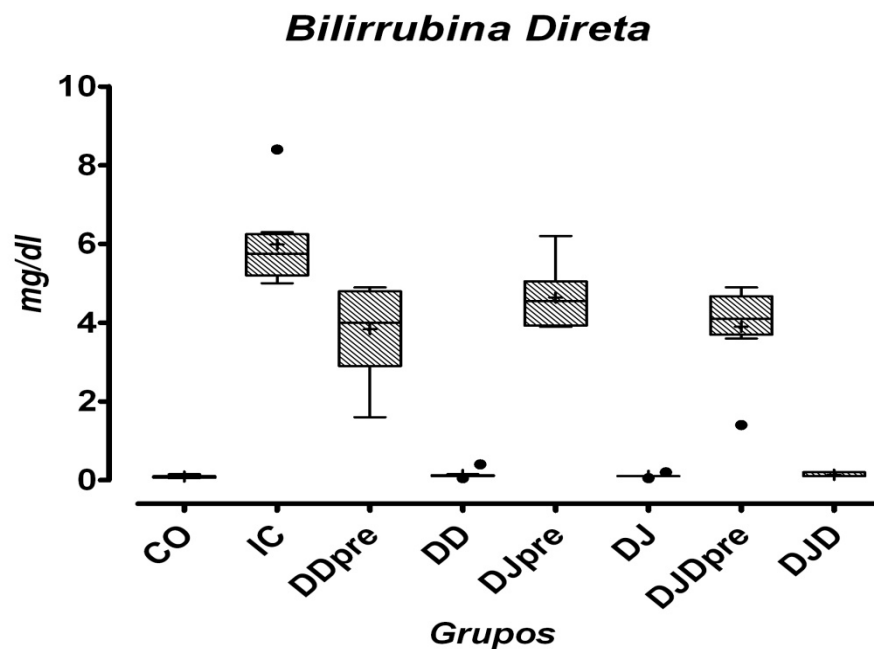


Figura 10 - Representação dos valores séricos de Bilirrubina Direta (BD), em mg/dl, dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a decompressão bilioduodenal (DD), decompressão biliojejeunal (DJ) e decompressão biliojejeunal com decompressão da alça exclusa (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
 Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DDpre, DJpre, DJDpre, DD, DJ, DJD) e, DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

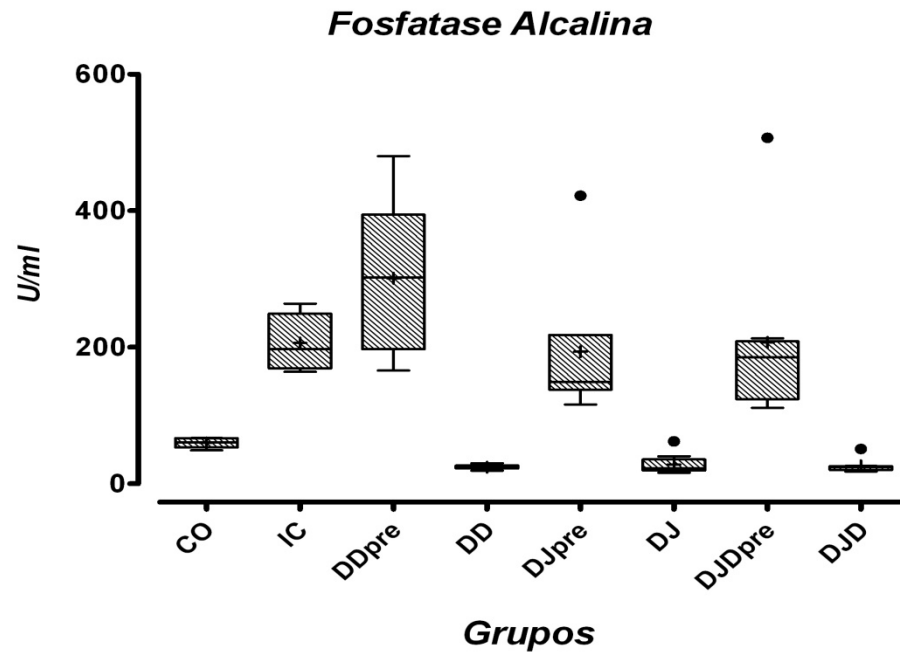


Figura 11 - Representação dos valores séricos de Fosfatase Alcalina (FA), em Unidades/ml, dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusa (DJD), além do grupo Controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
 Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DD, DJ, DJD, DDpre), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD, DDpre vs DJpre, DDpre vs DJDpre

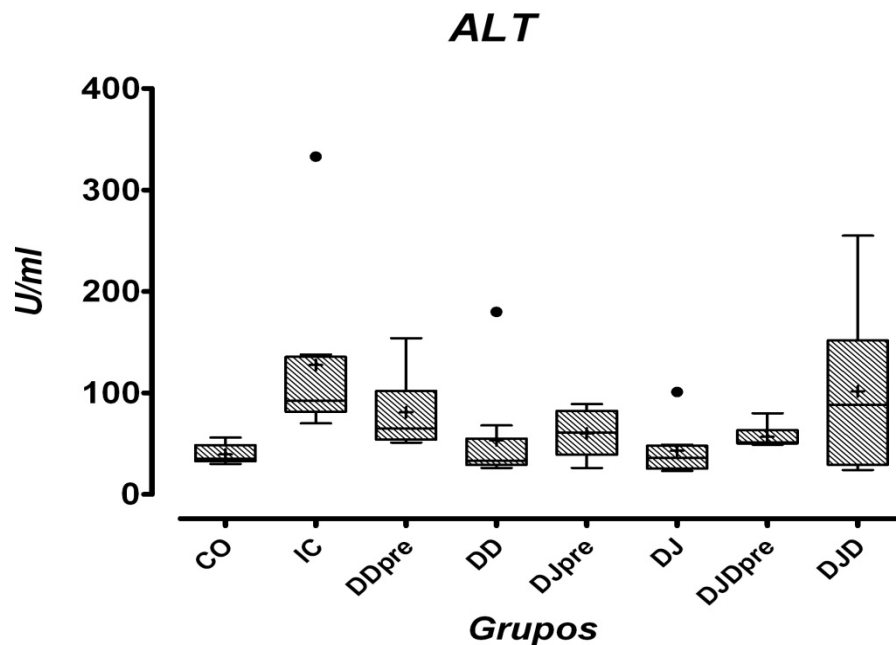


Figura 12 - Representação dos valores séricos da Alanina Aminotransferase (ALT), em Unidades/ml, dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusa (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
 Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs IC, IC vs DJDpre, DD vs IC, DJ vs IC

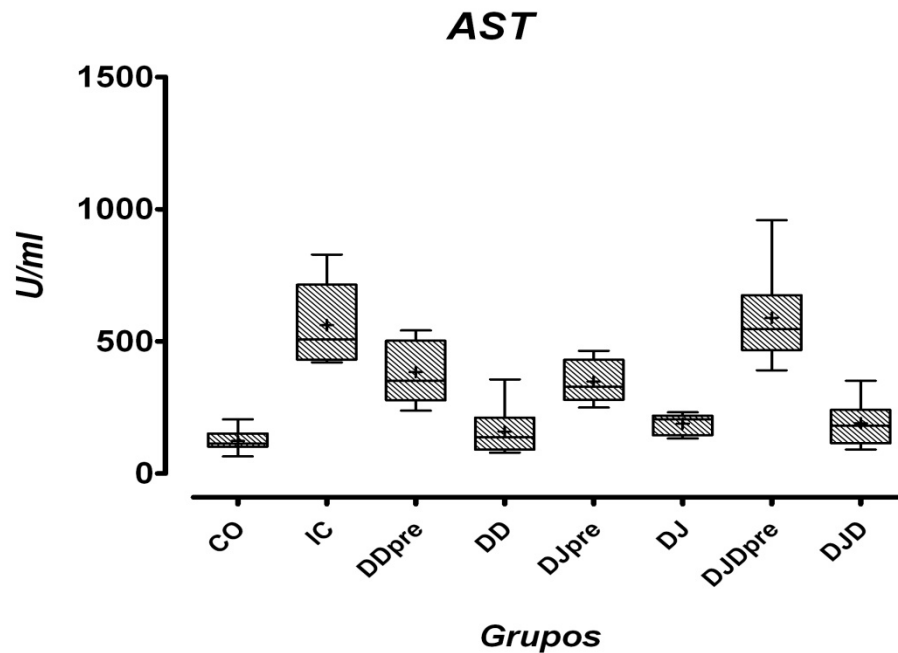


Figura 13 – Representação dos valores séricos da Aspartato Aminotransferase (AST), em Unidades/ml, dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojeunal (DJ) e descompressão biliojeunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO)

_____ (Mediana), + (Média)

Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos:

CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DDpre, DJpre, DD, DJ, DJD), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD, DDpre vs DJDpre, DJpre vs DJDpre

5.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA DO FÍGADO

5.4.1 Análise microscópica qualitativa

Em todos os animais do grupo OB ocorreu intensa proliferação de ductos biliares e fibrose, tais alterações foram mais acentuadas nos espaços portais, todavia observou-se, de maneira variável, irradiação da fibrose e ductos em direção a veia centro lobular. Este processo produziu a septação parcial do parênquima hepático.

Após as derivações biliodigestivas houve recuperação da arquitetura hepática com redução significativa da fibrose e da proliferação, assim como dos septos por eles formados. Apesar da redução significativa da fibrose notou-se manutenção de poucos e finos septos fibróticos portais em relação ao CO (figura 14).

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

Os animais dos grupos IC, DDpre, DJpre e DJDpre, quando comparados com os animais do grupo CO, apresentaram redução significativa da fração volumétrica de hepatócitos, acompanhada de aumento da fração de fibrose e dos ductos biliares. O grupo DDpre apresentava fração de volume de hepatócitos significativamente menor em relação ao IC.

Houve aumento significativo da fração de volume dos hepatócitos nos três grupos submetidos a derivação biliar em relação ao período anterior à descompressão. A percentagem de volume de hepatócitos foi significativamente menor no grupo DD quando comparado com os grupos DJ e DJD, assim como em relação ao grupo CO. Não houve diferença na percentagem de volume de hepatócitos entre o grupo DD e IC. Após DJD houve aumento significativo da fração de volume de hepatócitos em relação ao grupo DJDpre e IC; no entanto, esta foi significativamente menor em relação ao grupo CO.

Houve redução significativa da fração de volume de fibrose e ductos nos três grupos tratados em comparação ao período de obstrução biliar e ao grupo IC. O valor percentual do volume de fibrose e dos ductos foi equivalente nos três grupos submetidos à derivação biliar. Todavia, a fração de volume de fibrose no grupo DD foi significativamente maior em relação ao CO.

A fração de volume de outros elementos foi equivalente entre os grupos IC e CO. No grupo DDpre, a fração de volume de outros elementos foi maior em relação ao IC. Houve equivalência da fração de volume de outros elementos entre os tratamentos. Todavia, após DD, a fração de volume de outros elementos foi significativamente maior em relação ao CO. Os achados são mostrados na tabela 2 e figuras 14 a 18.

Tabela 2 – Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre a fração de volume (%) dos elementos histológicos do fígado (média \pm desvio padrão)

Grupos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
Hepatócitos	68 \pm 4	50 \pm 4	41 \pm 6	55 \pm 3	46 \pm 3	63 \pm 3	45 \pm 6	62 \pm 4
Fibrose	2 \pm 1	11 \pm 2	12 \pm 4	5 \pm 1	11 \pm 4	5 \pm 1	12 \pm 4	4 \pm 2
Ductos	0 \pm 0	8 \pm 3	6 \pm 3	0 \pm 0	7 \pm 4	1 \pm 1	6 \pm 1	1 \pm 1
Outros	30 \pm 3	31 \pm 4	41 \pm 1	39 \pm 3	35 \pm 5	31 \pm 2	31 \pm 14	33 \pm 3

p<0,01 para comparações entre os grupos:

Fração de volume (%) hepatócitos: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre, DD, DJD), IC vs (CO, DJ, DJD, DDpre), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD, DD vs DJ, DD vs DJD

Fração de volume (%) fibrose: CO vs (DDpre, DJpre, DJDpre, IC, DD), IC vs (DD, DJ, DJD, CO), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

Fração de volume (%) ductos: CO vs (DDpre, DJpre, DJDpre, IC), IC vs (DD, DJ, DJD, CO), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

Fração de volume (%) outros elementos: CO vs (DDpre e DD), IC vs (DDpre e DD), DDpre vs DJDpre

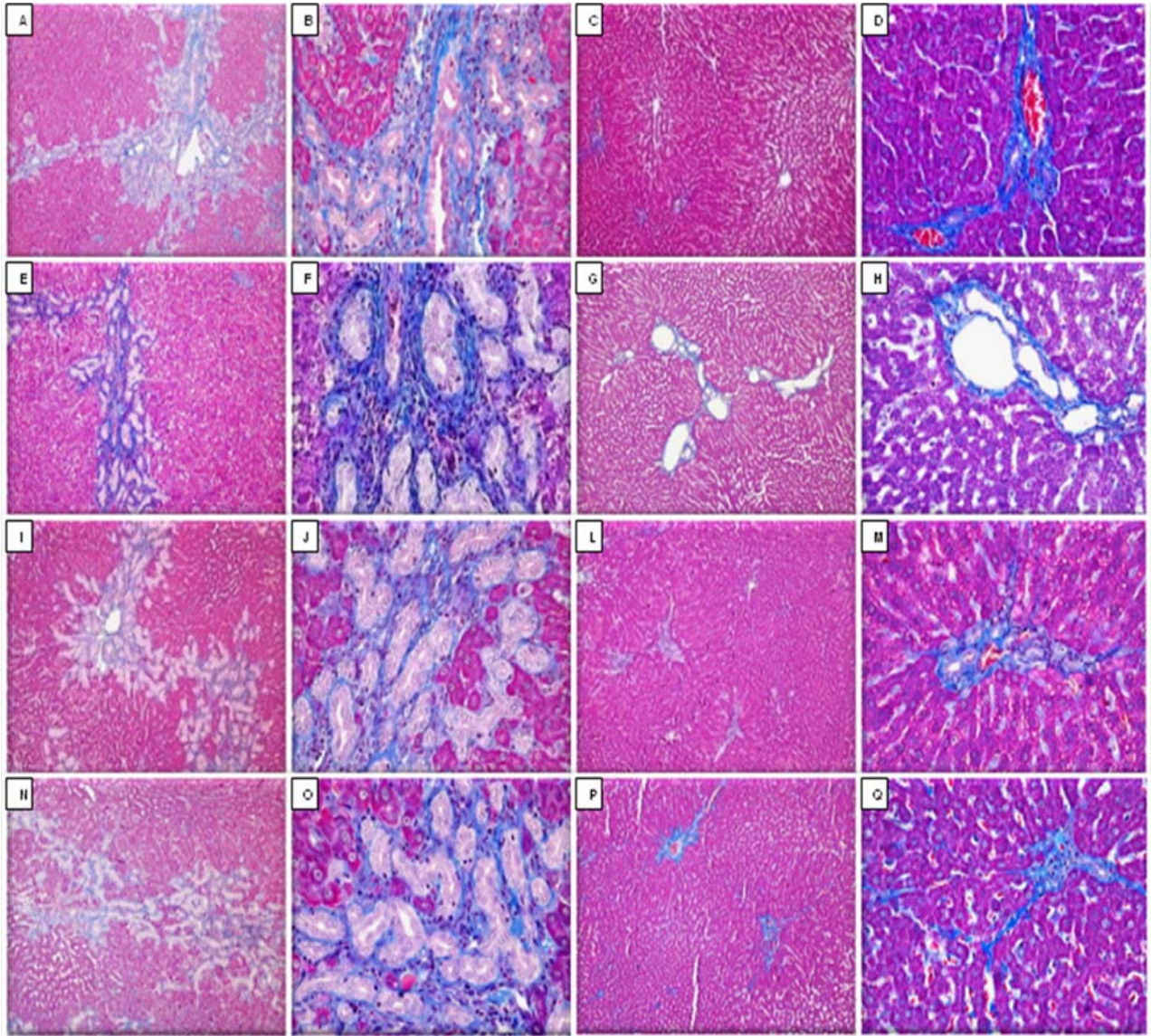


Figura 14 - Aspecto histológico do fígado corado pelo Tricômico de Masson em aumento de 100X e 400X, de ratos com duas semanas de obstrução biliar. Observou-se aumento da fibrose (corada em azul pelo Tricômico de Masson) e intensa proliferação ductal, mais acentuadas próximas aos espaços portais. A septação do parênquima hepático, quando presente, atingiu parcialmente os lóbulos hepáticos. Essas alterações foram semelhantes nos grupos DDpre, DJpre e DJDpre e IC. Após as derivações biliodigestivas (DD, DJ, DJD) ocorreu regressão expressiva dos ductos e da fibrose, no entanto com manutenção de poucos e finos septos fibrosos nos espaços portais em comparação ao grupo CO.

Grupo IC aumento de 100X (A) e 400X (B); Grupo CO aumento de 100X (C) e 400X(D)
 Grupo DDpre aumento de 100X (E) e 400X (F); Grupo DD aumento de 100X (G) e 400X (H)
 Grupo DJpre aumento de 100X (I) e 400X (J); Grupo DJ aumento de 100X (L) e 400X (M)
 Grupo DJDpre aumento de 100X (N) e 400X (O); Grupo DJD aumento de 100X (P) e 400X (Q)

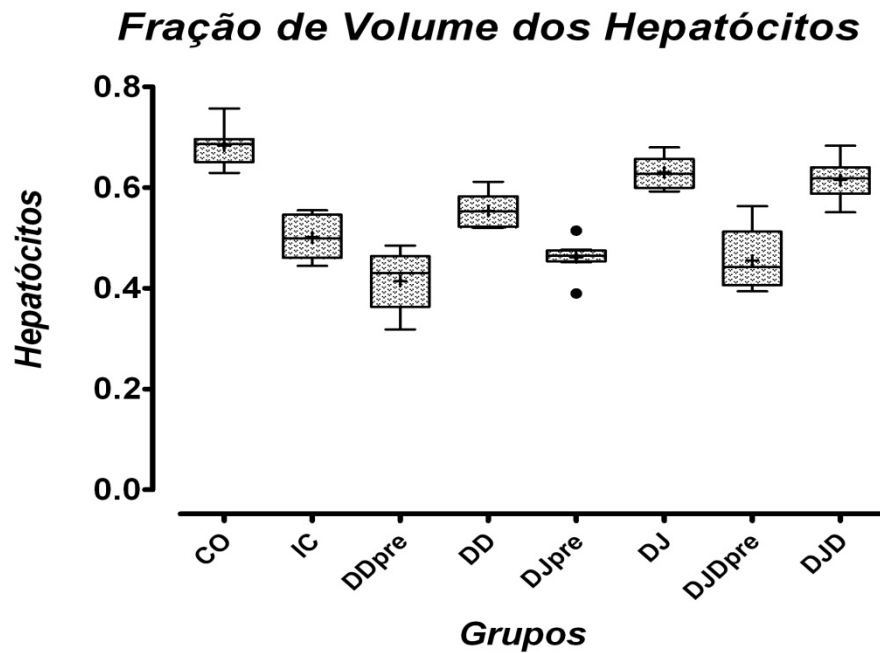


Figura 15 – Representação dos valores da fração de volume dos hepatócitos dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO)

_____ (Mediana), + (Média)

Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre, DD, DJD), IC vs (CO, DJ, DJD, DDpre), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD, DD vs DJ, DD vs DJD

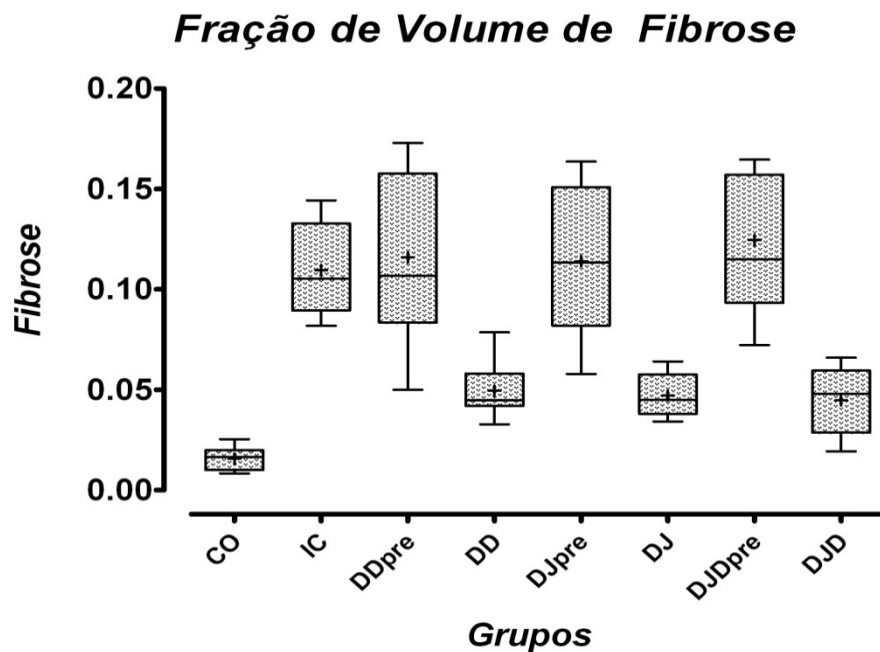


Figura 16 – Representação dos valores da fração de volume de fibrose hepática dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO)

_____ (Mediana), + (Média). Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (DDpre, DJpre, DJDpre, IC, DD), IC vs (DD, DJ, DJD, CO), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

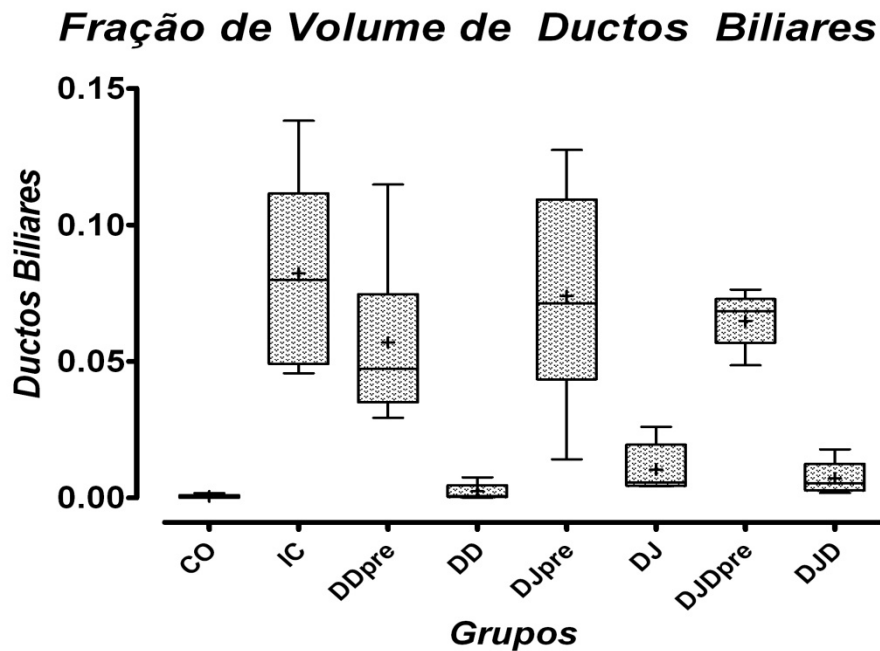


Figura 17 – Representação dos valores da fração de volume dos ductos biliares dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO)

_____ (Mediana), + (Média). Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (DDpre, DJpre, DJDpre, IC), IC vs (DD, DJ, DJD, CO), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

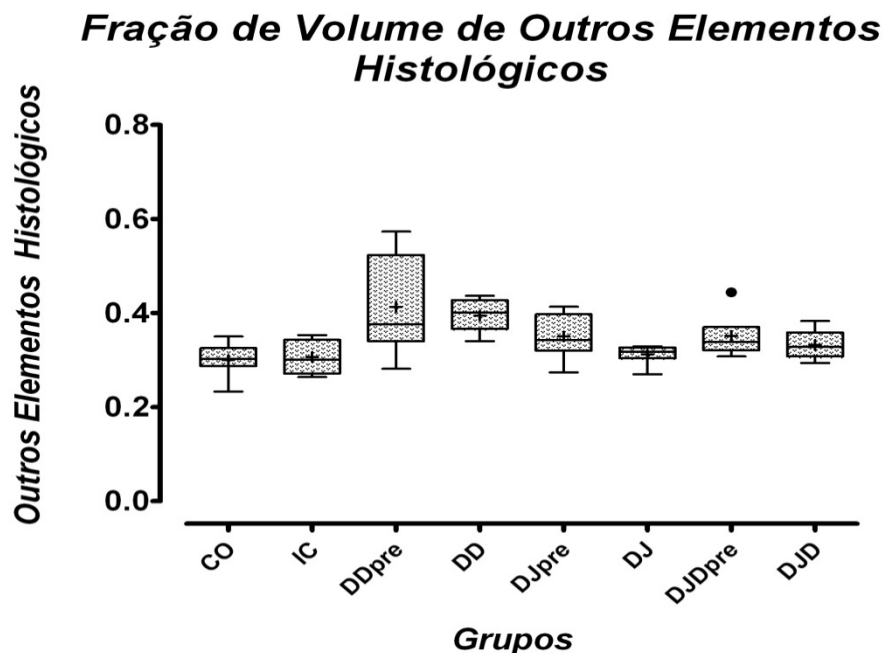


Figura 18 – Representação dos valores da fração de volume de outros elementos histológicos hepáticos dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO)

_____ (Mediana), + (Média)

Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: CO vs (DDpre e DD), IC vs (DDpre e DD), DDpre vs DJDpre

5.4.3 Análise do número e densidade dos ductos biliares

O número de ductos refere-se ao número absoluto de ductos encontrado na área do fragmento histológico estudado, para cada animal, expressos na tabela 3 na forma de média e desvio padrão para cada um dos grupos de interesse. Sabendo-se o número de ductos e o valor da área histológica avaliada, a densidade de ductos foi calculada através da razão do número de ductos pela área de interesse.

Os resultados apresentados são semelhantes e seguem o padrão encontrado na análise *da percentagem de fração de volume dos ductos*, demonstrado anteriormente. Há um aumento significativo do número absoluto e da densidade dos ductos nos grupos submetidos a obstrução biliar (IC, DDpre, DJpre e DJDpre) em relação ao CO, que se normalizam após a derivação biliar, sem diferença significativa entre as modalidades adotadas. Não houve diferença entre DD, DJ, DJD e o grupo CO. Os resultados são mostrados na tabela 3 e figuras 19 e 20.

Tabela 3 – Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações bilioduodenal (DD), biliojejunal (DJ) e biliojejunal com descompressão da alça excluída (DJD), no número de ductos e densidade dos ductos, expressos em número de ductos/mm². Valores de média ± desvio padrão dos ductos biliares, para número e densidade de ductos

Grupos	Número de ductos	Densidade de ductos
CO	2,13 ± 2,3	2,53 ± 2,73
IC	93,63 ± 31,01	111,37 ± 36,88
DDpre	65,67 ± 27,37	78,12 ± 32,56
DD	7,78 ± 7,46	9,25 ± 8,88
DJpre	73,25 ± 33,86	87,14 ± 40,28
DJ	24,88 ± 11,19	29,59 ± 13,31
DJDpre	73,43 ± 15,66	87,43 ± 18,63
DJD	18,13 ± 11,38	21,56 ± 13,54

p < 0,01 (diferença significativa) para comparações entre os grupos:

IC vs (DD, DJ, DJD, CO), CO vs (DDpre, DJpre, DJDpre, IC), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

Para número e densidade de ductos

Número de Ductos Biliares

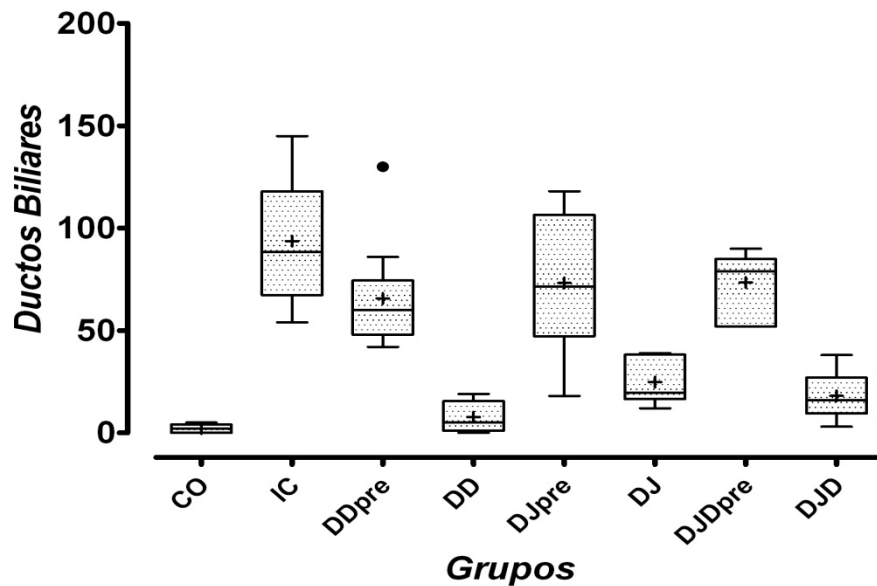


Figura 19 – Representação dos valores do número de ductos biliares dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, Djpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (DD, DJ, DJD, CO), CO vs (DDpre, Djpre, DJDpre, IC), DDpre vs DD, Djpre vs DJ, DJDpre vs DJD

Densidade de Ductos Biliares/mm²

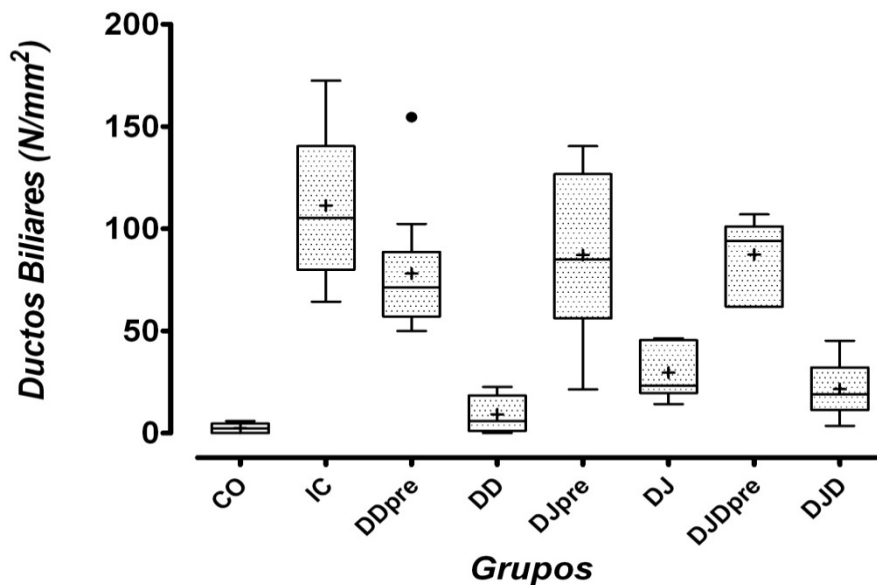


Figura 20 – Representação dos valores de densidade dos ductos biliares (por mm²) dos ratos submetidos a obstrução biliar (DDpre, Djpre, DJDpre e IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (DD, DJ, DJD, CO), CO vs (DDpre, Djpre, DJDpre, IC), DDpre vs DD, Djpre vs DJ, DJDpre vs DJD

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

Os animais do grupo IC, quando comparados com os animais do grupo CO, apresentaram aumento significativo da massa estimada do fígado e do baço. Após a derivação biliar (grupos DD, DJ e DJD), houve redução significativa da massa estimada do fígado e do baço em relação ao grupo IC. Os valores obtidos nos grupos submetidos à derivação biliar foram equivalentes àqueles observados no grupo CO e não houve diferença entre as modalidades de tratamento.

Os animais do grupo IC, quando comparados com os animais do grupo CO, apresentaram aumento significativo da massa estimada de hepatócitos, fibrose e ductos. Houve redução significativa da massa estimada dos hepatócitos, da fibrose, dos ductos e dos outros elementos nos grupos DD, DJ e DJD em relação ao grupo IC. Não houve diferença da massa estimada desses elementos histológicos, entre os grupos tratados, e destes com o grupo CO. Apenas no grupo DD, a massa estimada de hepatócitos foi significativamente menor em relação ao grupo CO. Os resultados são apresentados na tabela 4 e figuras 21 a 26.

Tabela 4 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a massa relativa do fígado e do baço (g/kg) e a massa estimada (g/kg) dos componentes histológicos do fígado (média \pm desvio padrão)

Grupos	CO	IC	DD	DJ	DJD
Massa hepática	30,02 \pm 2,38	64,8 \pm 9,38	30,15 \pm 3,81	29,87 \pm 3,36	29,89 \pm 2,85
Massa esplênica	2,95 \pm 0,4	6,09 \pm 0,65	2,63 \pm 0,37	3,06 \pm 0,9	3,13 \pm 0,68
Hepatócitos	20,52 \pm 2,04	32,33 \pm 4,2	16,67 \pm 2,06	18,77 \pm 1,52	18,4 \pm 2,12
Fibrose	0,47 \pm 0,18	7,19 \pm 2,25	1,47 \pm 0,34	1,43 \pm 0,48	1,34 \pm 0,52
Ductos	0,02 \pm 0,02	5,38 \pm 2,48	0,07 \pm 0,08	0,34 \pm 0,33	0,21 \pm 0,18
Outros elementos	9,02 \pm 1,14	19,9 \pm 3,89	11,93 \pm 2,23	9,34 \pm 1,33	9,94 \pm 1,28

$p < 0,01$ (diferença significativa) para comparação entre os grupos:

IC vs (CO, DD, DJ, DJD), CO vs DD*, para:

Massa hepática, massa esplênica, massa de hepatócitos*, massa de fibrose, massa de ductos e massa de outros elementos histológicos

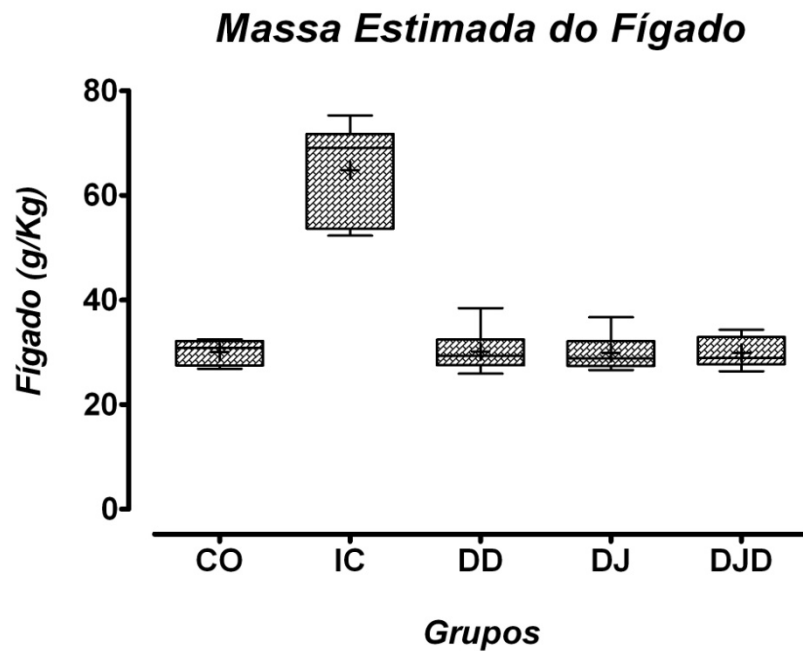


Figura 21 – Representação dos valores da massa estimada do fígado em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos a obstrução biliar (IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO). ____ (Mediana), + (Média)
Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

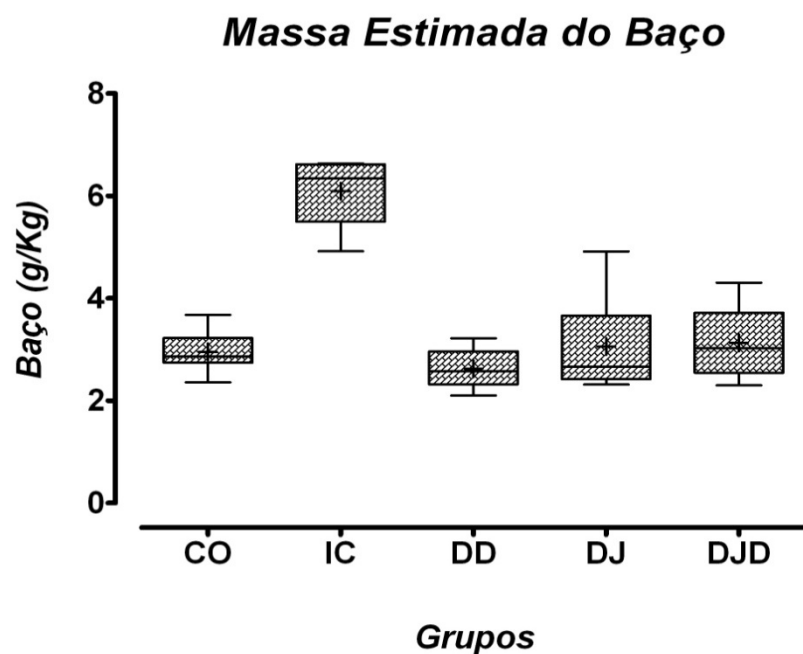


Figura 22 – Representação dos valores da massa estimada do baço em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos a obstrução biliar (IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO). ____ (Mediana), + (Média)
Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

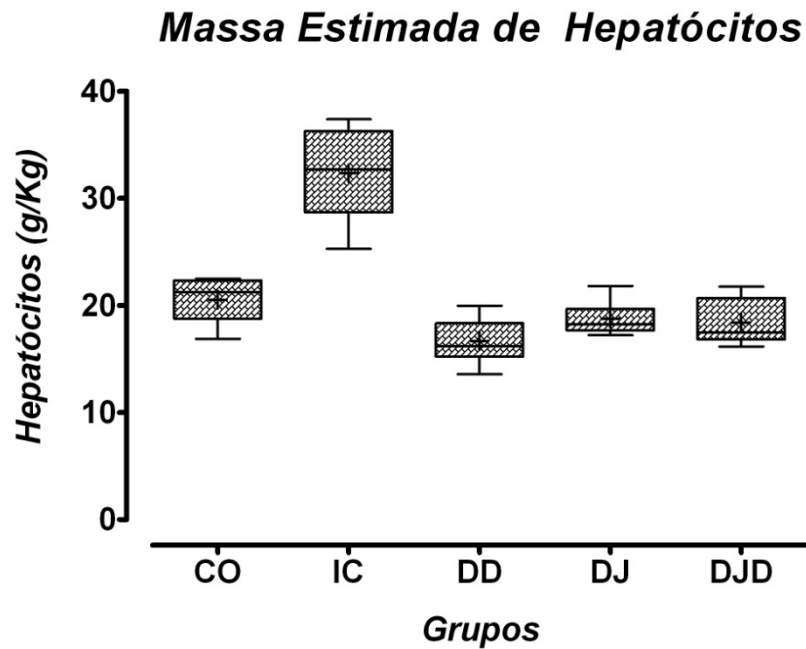


Figura 23 – Representação dos valores da massa estimada de hepatócitos em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos a obstrução biliar (IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
 Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos:
 IC vs (CO, DD, DJ, DJD), CO X DD

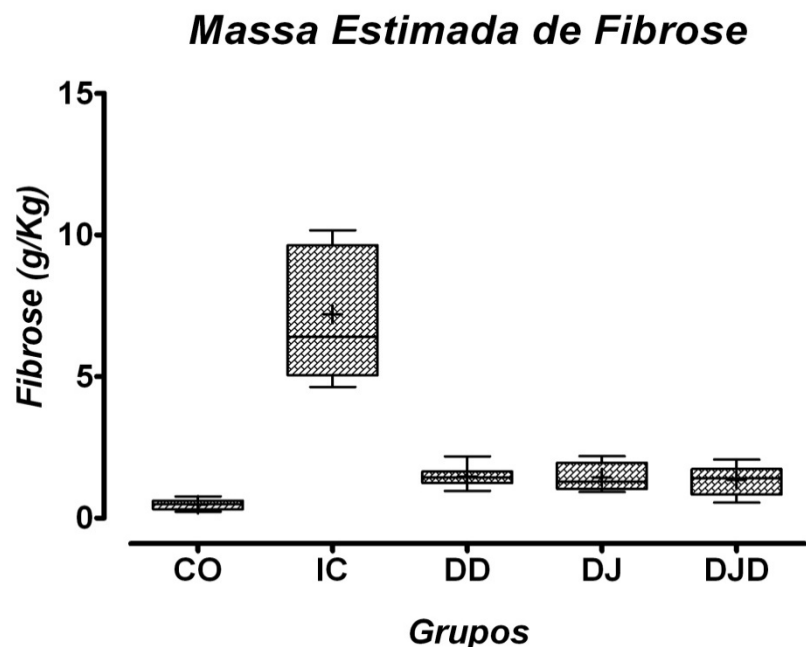


Figura 24 – Representação dos valores da massa estimada de fibrose hepática em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos a obstrução biliar (IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça exclusiva (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
 Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

Massa Estimada de Ductos Biliares

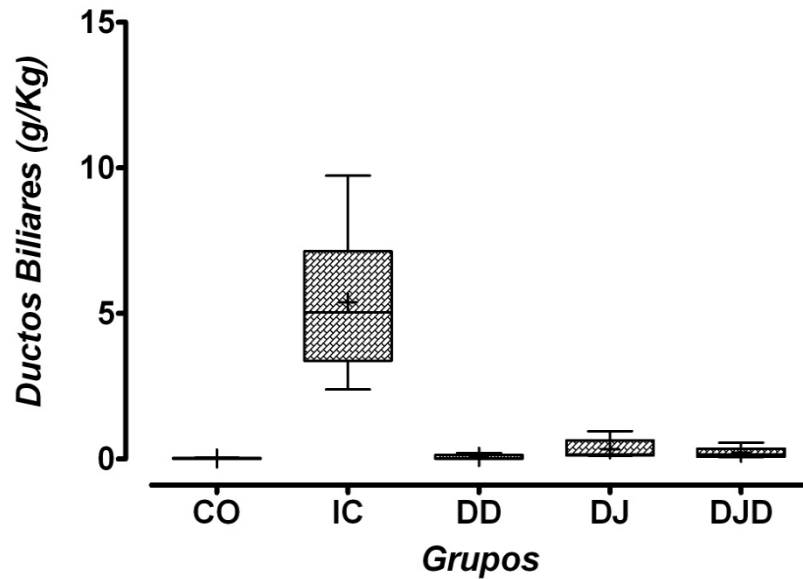


Figura 25 – Representação dos valores da massa estimada de ductos biliares em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos a obstrução biliar (IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça excluída (DJD), além do grupo controle (CO). _____ (Mediana), + (Média)
Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

Massa Estimada de Outros Elementos Histológicos

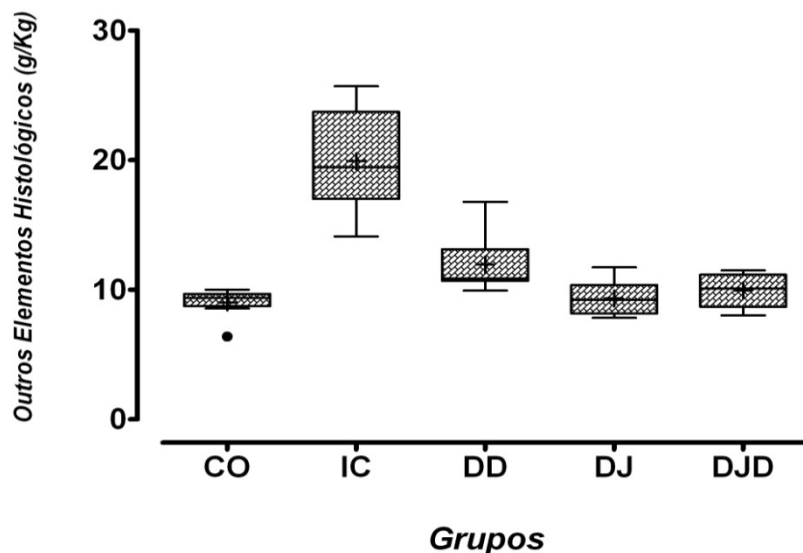


Figura 26 – Representação dos valores da massa estimada de outros elementos histológicos hepáticos em g/kg de peso corporal dos ratos submetidos a obstrução biliar (IC), e submetidos a descompressão bilioduodenal (DD), descompressão biliojejunal (DJ) e descompressão biliojejunal com descompressão da alça excluída (DJD), além do grupo controle (CO)
_____ (Mediana), + (Média)
Diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

5.4.5 Análise das células estreladas hepáticas

Observou-se aumento significativo do número de células estreladas após 15 dias de obstrução biliar. As três modalidades de derivação biliodigestiva promoveram, igualmente, redução significativa do número das células estreladas hepáticas a valores próximos ao do grupo CO (tabela 5 e figuras 27 e 28).

Tabela 5 - Valores médios e seus respectivos desvios-padrões do número de células estreladas, nos grupos com obstrução biliar (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), nos grupos derivados (DD, DJ e DJD) e no grupo controle (CO)

Grupos	Células Estreladas
CO	15,13 ± 10,56
IC	110 ± 30,83
DDpre	152,22 ± 36,56
DD	41,78 ± 13,12
DJpre	149 ± 36,02
DJ	51,38 ± 11,06
DJDpre	147,75 ± 59,47
DJD	38 ± 10,53

$p < 0,01$ (diferença significativa) para comparações entre os grupos: CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DD, DJ, DJD, DDpre), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

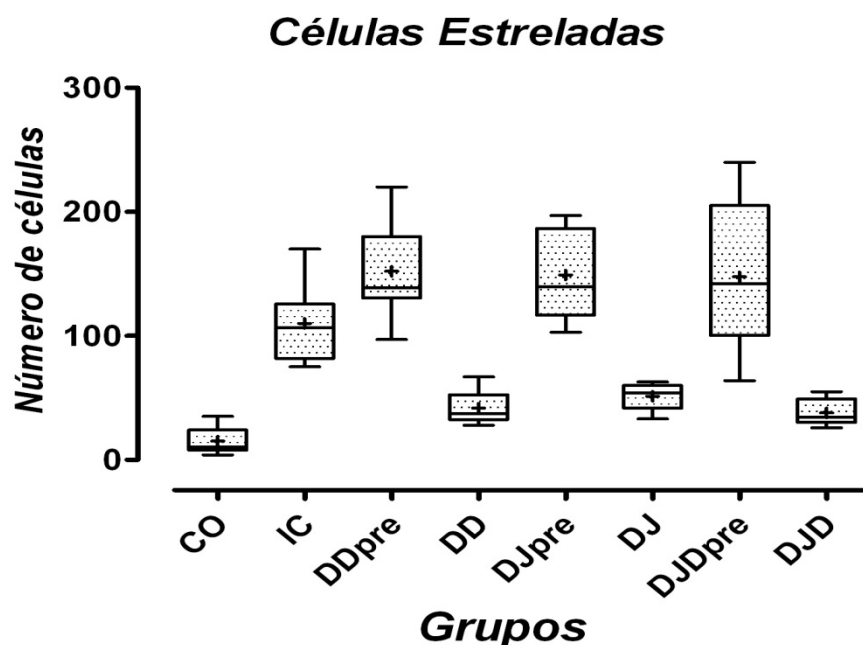


Figura 27 - Representação dos valores do número de células estreladas hepáticas nos ratos submetidos à obstrução biliar (IC, DDpre, DJpre e DJDpre), à derivação bilioduodenal (DD), a derivação biliojejunal (DJ) e a derivação biliojejunal com descompressão da alça excluída (DJD), além do grupo controle (CO)

— (Mediana), + (Média)

Diferenças significativas ($p < 0,01$) observadas entre os grupos:

CO vs (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), IC vs (CO, DD, DJ, DJD, DDpre), DDpre vs DD, DJpre vs DJ, DJDpre vs DJD

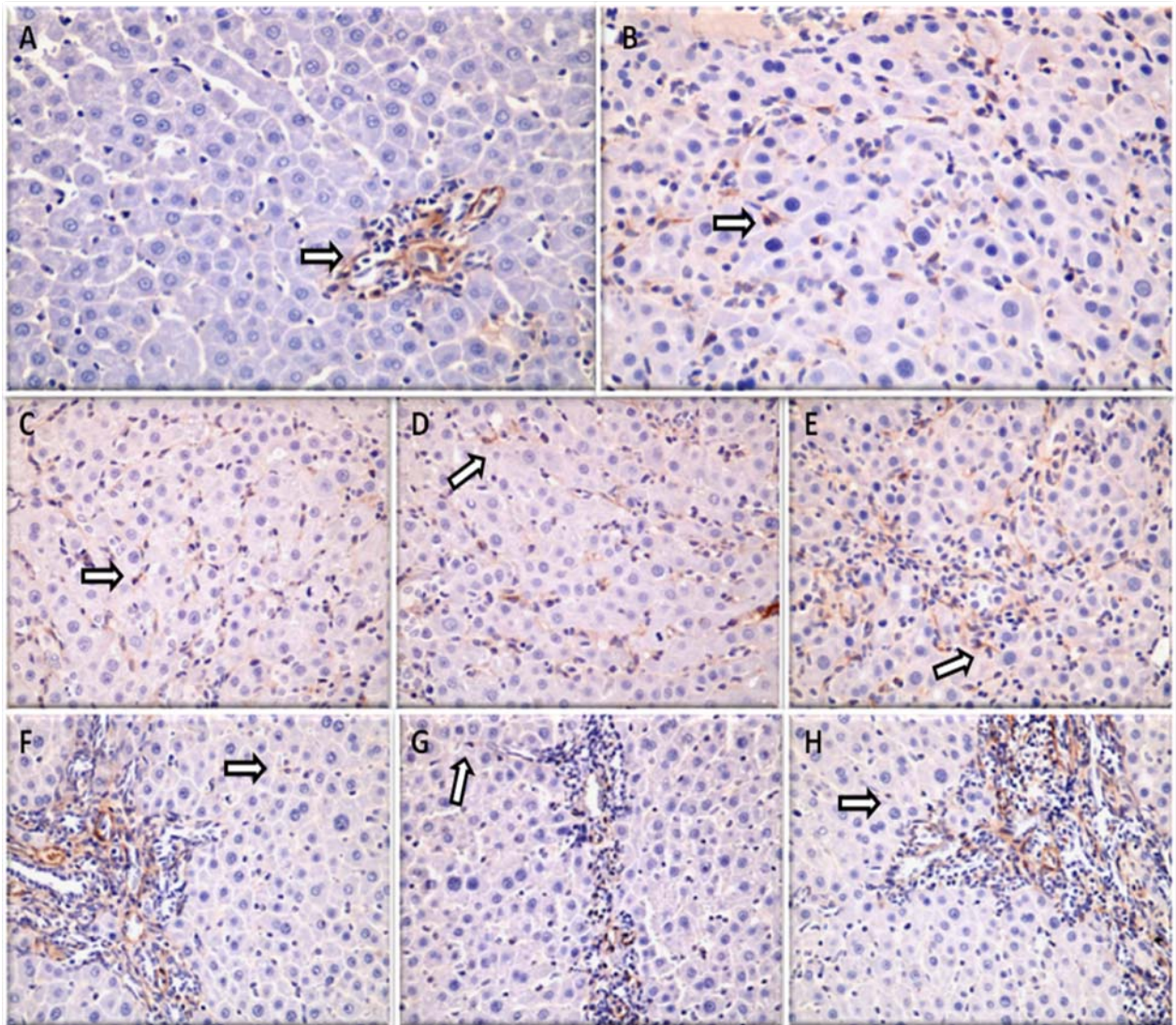


Figura 28 – Prancha obtida a partir dos cortes histológicos do fígado marcados pela técnica de imunohistoquímica 400X, as setas indicam as células estreladas hepáticas coradas pelo anticorpo anti-desmina, com redução expressiva após as três modalidades de derivação biliar
 Grupos: CO (A); IC (B); DDpre (C); DJpre (D); DJDpre (E); DD (F); DJ (G) e DJD (H)

5.5 ANÁLISE DA CINTILOGRAFIA HEPATOBILIAR DINÂMICA COM DISIDA^{99M}TC

A cintilografia hepatobiliar dinâmica avalia a função excretora hepatocelular e a permeabilidade do sistema biliar através de radiotraçadores que são captados pelo hepatócito, secretados para via biliar e, finalmente excretados para o intestino delgado.

O T_{max} e o T^{1/2} de eliminação do radiofármaco foram atingidos rapidamente no grupo CO, DD, DJ, DJD não havendo diferença significativa entre eles. Nos animais IC o T_{max} e o T^{1/2} sofreram retardo significativo, não havendo excreção da substância radioativa para o intestino delgado. O grupo IC apresentou diferença significativa em relação aos demais grupos.

No presente estudo, todas as anastomoses biliodigestivas avaliadas por cintilografia hepatobiliar dinâmica estavam pérvias. Todavia, o tempo de aparecimento do elemento radiativo no intestino delgado foi significativamente maior nos grupos operados em relação ao grupo CO. Por outro lado, não houve diferença entre os grupos DD, DJ, DJD. O grupo IC não apresentou aparecimento do marcador no intestino delgado. A discreta excreção e o decaimento da curva atividade/tempo, nesse grupo, ocorreu em virtude da eliminação renal.

A atividade residual hepática (R₂₀/Max) foi equivalente entre os grupos DD, DJ, DJD e significativamente menores em relação ao grupo IC. No entanto, o grupo DJD apresentou maior atividade residual hepática que o grupo CO. Os resultados são apresentados na tabela 6 e figuras de 29 a 32, e a representação da curva atividade/tempo e tempo de aparecimento do elemento radiativo no intestino delgado são mostrados nas figuras 33 a 38.

Tabela 6 – Valores de tempo para eliminação hepática de metade do radiotraçador ($T_{1/2}$), atividade hepática máxima (T_{max}), expressos em minutos; tempo de aparecimento do radiofármaco no intestino delgado ($T_{intestino}$), expressos em segundos, obtidos após injeção de DISIDA^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos (média \pm desvio padrão), além da razão 20 minutos/máximo

Grupos	CO	IC	DD	DJ	DJD
T intestino	93,75 \pm 6,94	360 \pm 0	145 \pm 16,77	131,25 \pm 10,61	151,13 \pm 29,95
T Max	1,5 \pm 0	8,51 \pm 4,48	2,03 \pm 0,32	2,13 \pm 0,38	2,19 \pm 0,26
T $\frac{1}{2}$	4,31 \pm 0,42	127,42 \pm 86,43	6,03 \pm 0,92	6,66 \pm 1,45	6,94 \pm 1,09
R20/Max	0,12 \pm 0,01	0,91 \pm 0,07	0,17 \pm 0,02	0,16 \pm 0,06	0,21 \pm 0,05

$p < 0,01$ (diferença significativa) entre os grupos:

Para T intestino: CO vs (DD, DJ, DJD), IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

Para Tmax: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

Para T $\frac{1}{2}$: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

Para R20/Max: IC vs (CO, DD, DJ, DJD), CO vs DJD

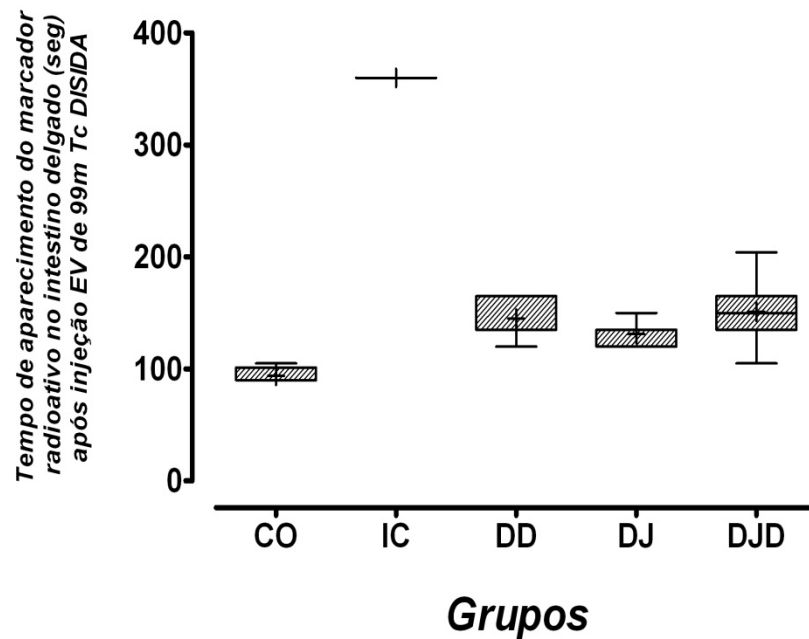


Figura 29 - Representação dos valores do tempo de aparecimento do radiofármaco no intestino delgado, expressos em segundos, obtidos após injeção de DISIDA-^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos. _____ (Mediana), + (Média)
 $p < 0,01$ (diferença significativa) entre os grupos:
 CO vs (DD, DJ, DJD, IC); IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

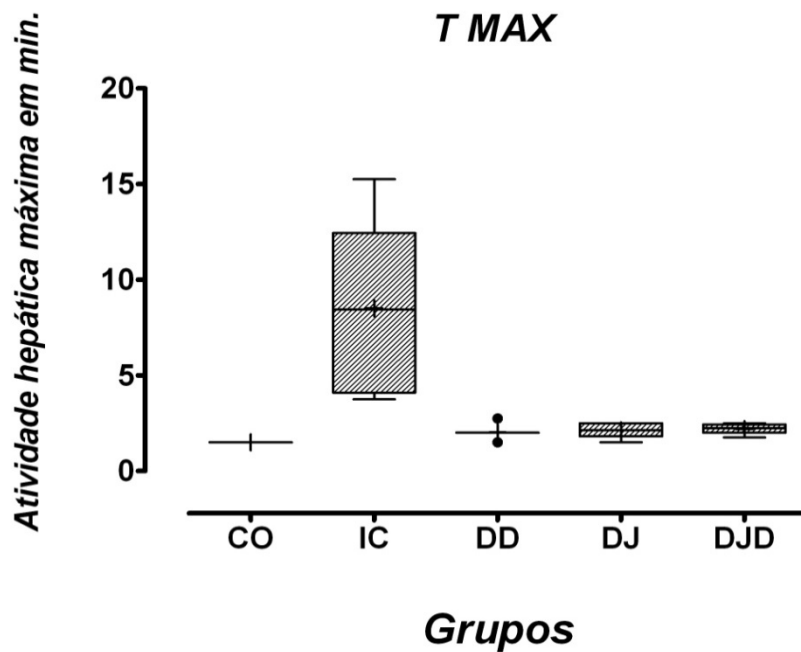


Figura 30 - Representação dos valores de atividade hepática máxima (T MAX), expressos em minutos, obtidos após injeção de DISIDA-^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos. _____ (Mediana), + (Média)
 $p < 0,01$ (diferença significativa) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

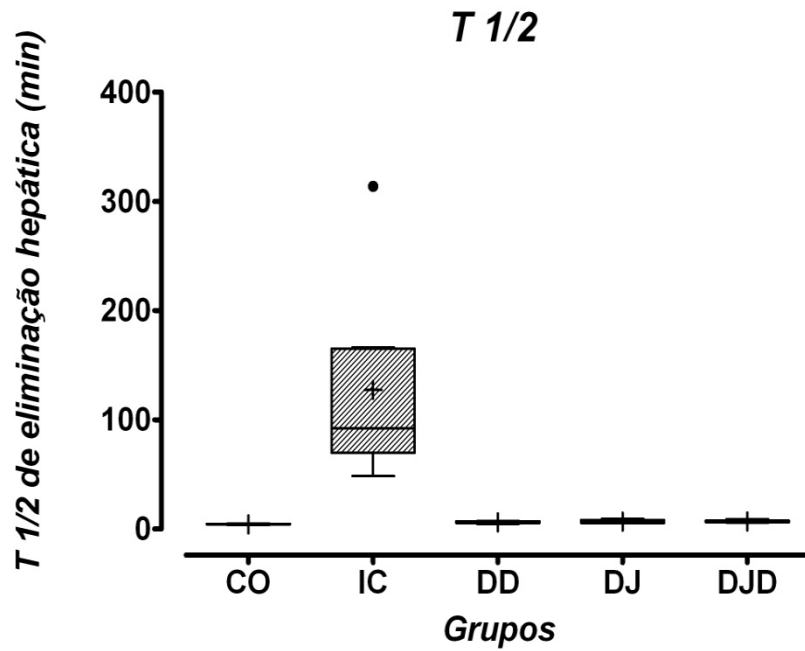


Figura 31 - Representação dos valores de tempo para eliminação hepática de metade do radiotraçador ($T_{1/2}$), expressos em minutos, obtidos após injeção de DISIDA- ^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos. _____ (Mediana), + (Média)
 $p < 0,01$ (diferença significativa) entre os grupos: IC vs (CO, DD, DJ, DJD)

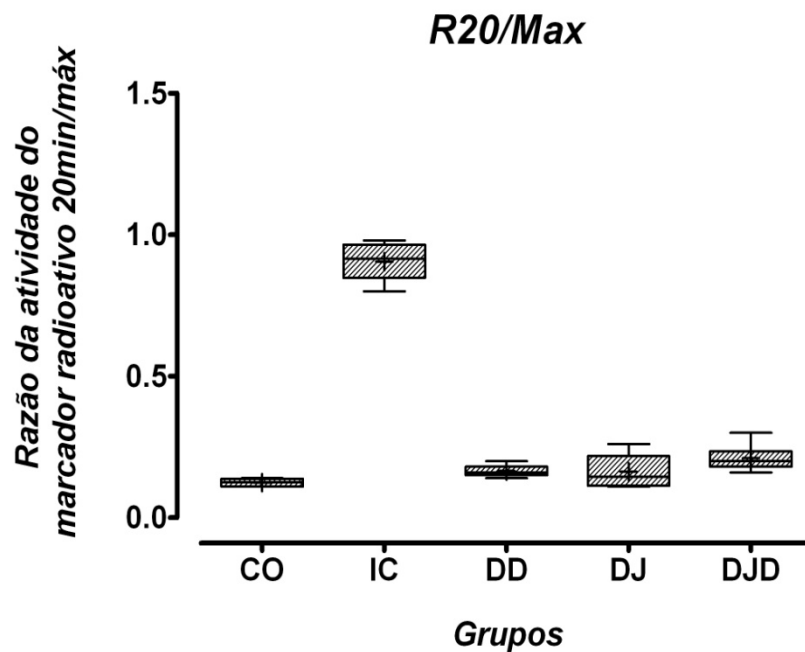


Figura 32 - Representação dos valores da razão da atividade do marcador radioativo em 20 minutos/máximo, obtidos após injeção de DISIDA- ^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos. _____ (Mediana), + (Média)
 $p < 0,01$ (diferença significativa) entre os grupos:
 IC vs (CO, DD, DJ, DJD), CO vs DJD

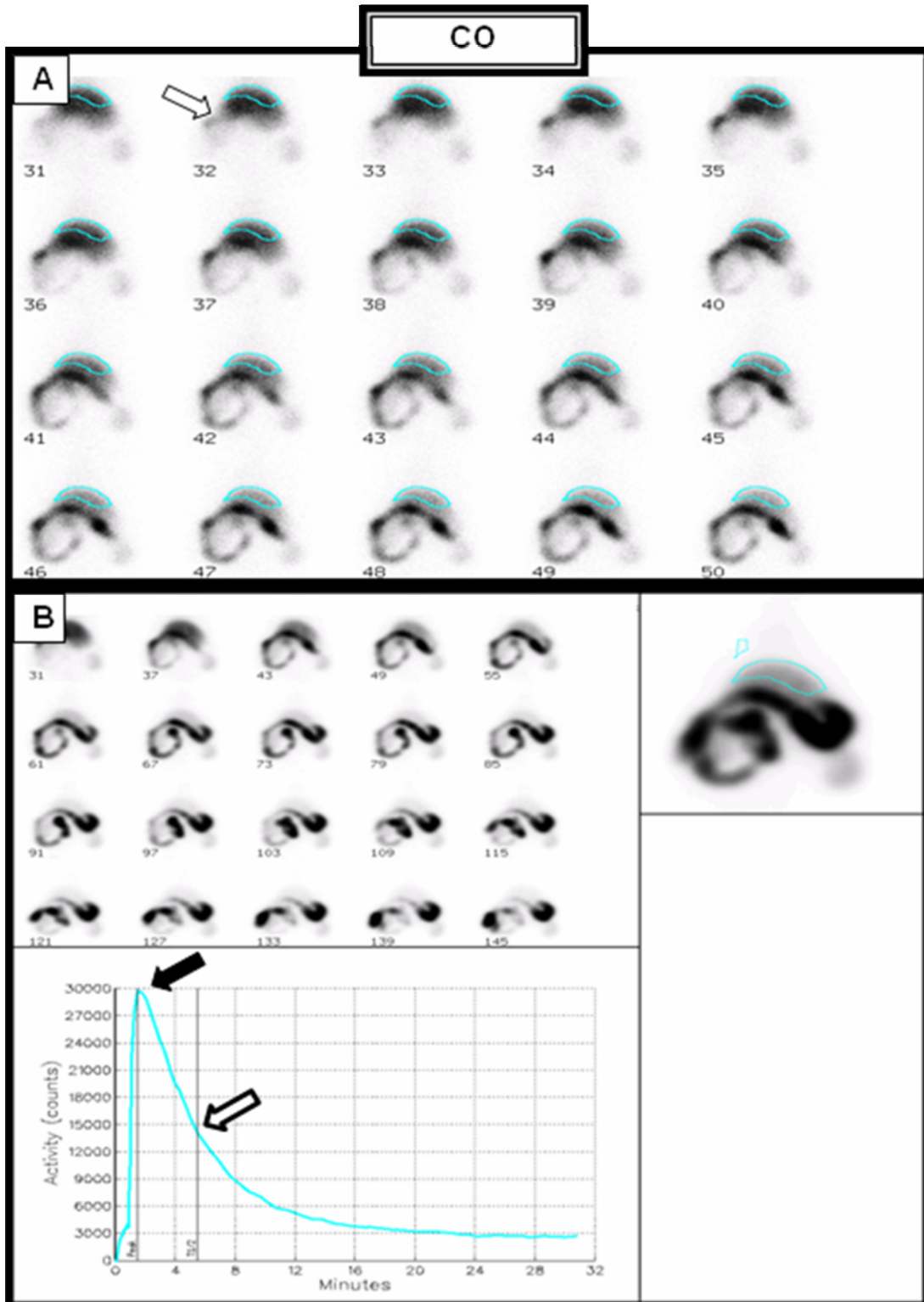


Figura 33 - Representação das imagens captadas, a cada 15 segundos, durante o estudo cintilográfico dinâmico. A região de projeção do fígado foi marcada em azul, onde se observa o decaimento do elemento radioativo nas imagens subsequentes e o aparecimento do radiofármaco no duodeno (seta). Esses registros permitem a avaliação do tempo de aparecimento do elemento radiativo no Intestino delgado (A). Representação na curva de atividade/tempo da atividade hepática máxima (seta cheia) e do $T_{1/2}$ de eliminação do radiofármaco (seta vazia) em um animal do grupo controle (B)

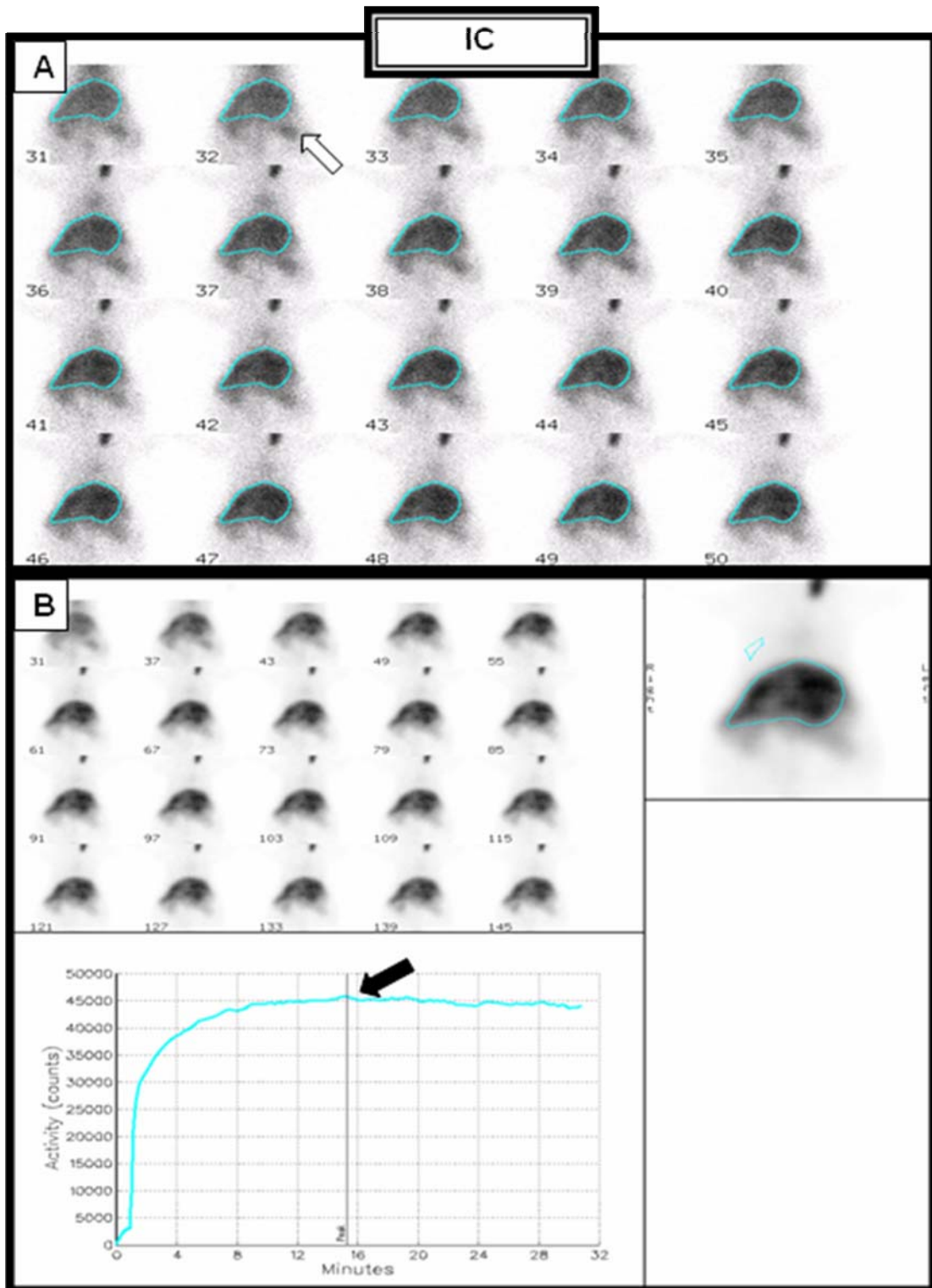


Figura 34 - Representação das imagens captadas, a cada 15 segundos, durante o estudo cintilográfico dinâmico em um animal do grupo IC. A região de projeção do fígado foi marcada em azul, onde se observa mínimo decaimento do elemento radioativo nas imagens subsequentes, decorrente da eliminação renal (seta) do radiofármaco, que não é detectado no intestino delgado (A). Representação da curva de atividade/tempo com retardo do pico de atividade hepática máxima (seta cheia), e T_{1/2} de eliminação do radiofármaco não é registrado no tempo de observação do exame (B)

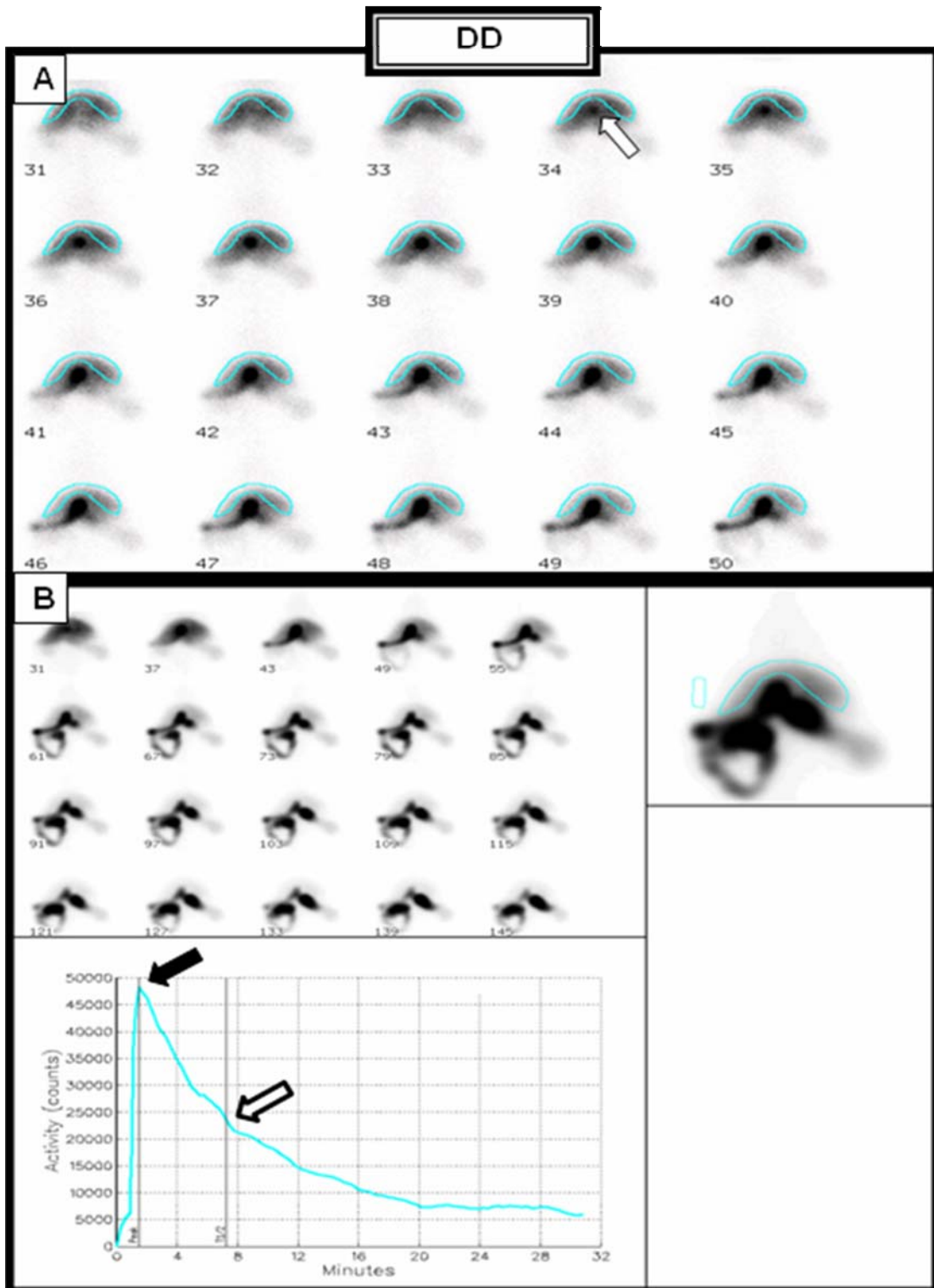


Figura 35 - Representação das imagens captadas, a cada 15 segundos, durante o estudo cintilográfico dinâmico em um animal do grupo DD. A região de projeção do fígado foi marcada em azul, onde se observa o decaimento do elemento radioativo nas imagens subseqüentes, e o aparecimento do radiofármaco no duodeno (seta). Esses registros permitem a avaliação do tempo de aparecimento do elemento radiativo no intestino delgado (A). Representação na curva de atividade/tempo da atividade hepática máxima (seta cheia) e do $T_{1/2}$ de eliminação do radiofármaco (seta vazia) (B)

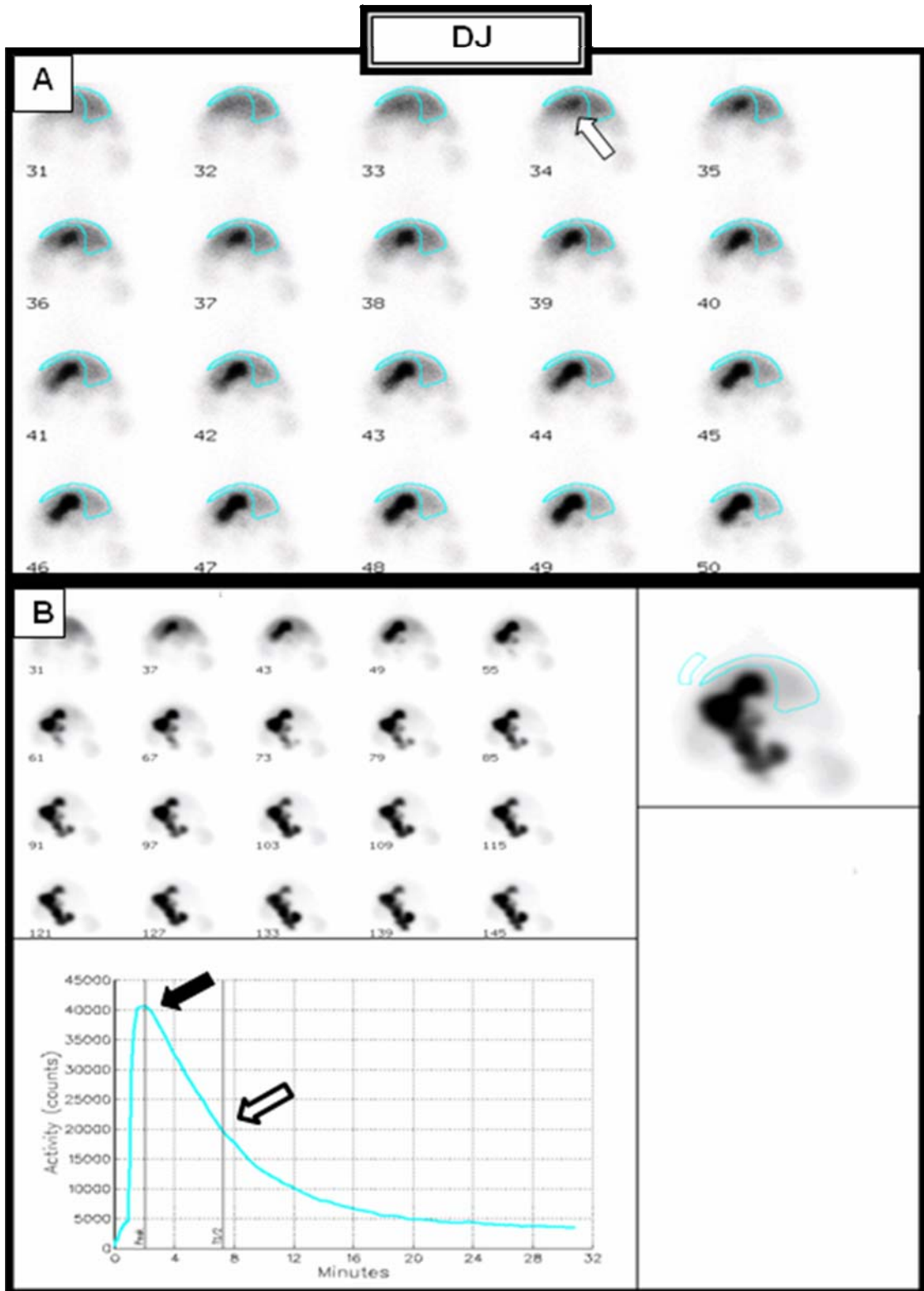


Figura 36 - Representação das imagens captadas, a cada 15 segundos, durante o estudo cintilográfico dinâmico em um animal do grupo DJ. A região de projeção do fígado foi marcada em azul, onde se observa o decaimento do elemento radioativo nas imagens subseqüentes, e o aparecimento do radiofármaco na alça jejunal (seta) esses registros permitem a avaliação do tempo de aparecimento do elemento radiativo no Intestino delgado (A). Representação na curva de atividade/tempo da atividade hepática máxima (seta cheia) e do $T_{1/2}$ de eliminação do radiofármaco (seta vazia) (B)

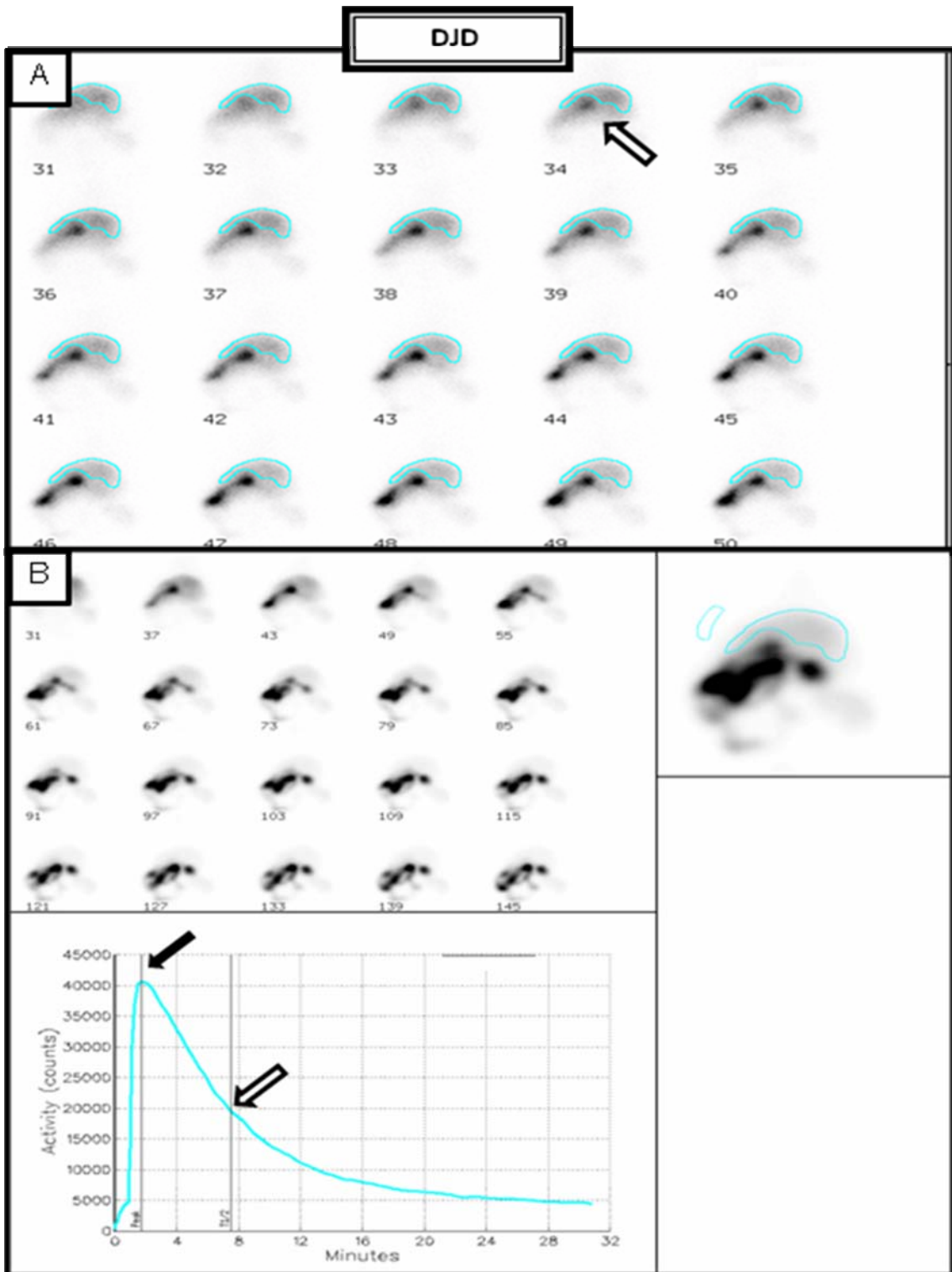


Figura 37 – Representação das imagens captadas, a cada 15 segundos, durante o estudo cintilográfico dinâmico em um animal do grupo DJD. A região de projeção do fígado foi marcada em azul, onde se observa o decaimento do elemento radioativo nas imagens subsequentes, e o aparecimento do radiofármaco na alça jejunal (seta) esses registros permitem a avaliação do tempo de aparecimento do elemento radiativo no Intestino delgado (A). Representação na curva de atividade/tempo da atividade hepática máxima (seta cheia) e do $T_{1/2}$ de eliminação do radiofármaco (seta vazia) (B)

6 DISCUSSÃO

A maioria dos estudos experimentais para avaliar o efeito das derivações biliares sobre a colestase e as lesões anatomopatológicas do fígado de ratos com obstrução biliar extra-hepática crônica empregou, isoladamente, a derivação com o duodeno (FRANCO et al., 1979; SANTOS et al., 1996a) ou com o jejuno (ABDEL-AZIZ et al., 1990; ARONSON et al., 1993; JALINK; URBANSKI; LEE, 1996; ZIMMERMAN et al., 1992). Os estudos que registraram comparativamente o efeito da derivação biliar, por meio do duodeno e do jejuno, sobre a reparação das lesões do fígado de ratos com obstrução biliar foram realizados em nosso meio (DUTRA et al., 2008; PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al., 1998; SANTOS, 2007). A avaliação comparativa tem como objetivo obter subsídios para seleção da modalidade de derivação biliar mais adequada, sobretudo na era da videolaparoscopia onde, na maioria das vezes, a opção recai sobre a derivação bilioduodenal (DUTRA et al., 2008).

A avaliação comparativa do efeito da derivação biliar com o duodeno e jejuno constata por meio da mensuração dos valores séricos das bilirrubinas e das enzimas canaliculares bem como do fluxo hepatobiliar, mediante estudo cintilográfico, que essas derivações promovem a regressão da colestase. A reparação das lesões anatomopatológicas do fígado também é descrita mediante estudos qualitativos e quantitativos, com verificação da recomposição da distribuição dos hepatócitos e da regressão da proliferação ductal, da fibrose e da hepatoesplenomegalia. Por outro lado, dentre esses estudos há alguns que registram o refluxo enterobiliar, a contaminação da via biliar e o aumento do processo inflamatório nos espaços portais após as duas modalidades de derivação bilioentérica, sobretudo após derivação com o duodeno (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al., 1998; SANTOS, 2007). Ainda, há o registro de estase, mediante estudo cintilográfico, na alça exclusiva do Y de Roux (DUTRA et al., 2008).

Assim, parece que o refluxo enterobiliar e a estase são fenômenos inerentes às modalidades de derivação bilioentérica mais frequentemente realizadas e podem estar associados à manutenção das lesões anatomopatológicas hepáticas registradas, sobretudo após a DD (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al., 1998; SANTOS, 2007). Esses achados reforçam o conceito amplamente difundido de que a DD facilita o refluxo enterobiliar, e 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 já foi

defendido (MADDEN et al., 1970). Há indícios de que essas alterações residuais no fígado após derivação biliar efetiva possam decorrer da obstrução parcial intermitente, particularmente na DD, por debris decorrentes do refluxo enterobiliar e da contaminação (GOLDMAN; STEER; SILEN, 1983; SANTOS et al., 1998; SANTOS, 2007)

Desta forma, os esforços para minimizar o refluxo enterobiliar, potencialmente mais intenso na derivação com o duodeno, e contornar a estase na alça exclusiva do Y de Roux justificam a derivação jejunoduodenal após DJ como foi realizado por Hashimoto, Kotoura e Ohyanagi (2005).

O presente estudo, com delineamento inédito, foi realizado com o objetivo de identificar possível benefício dessa modalidade de derivação biliar na redução do contato do conteúdo entérico com a via biliar, bem como da estase na alça exclusiva do Y de Roux. Essa modalidade de derivação, embora mais complexa nos seus aspectos técnicos, é factível (HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005) e ainda mantém as vantagens da DD que garante o fluxo biliar para o duodeno e possibilita a exploração por via endoscópica, caso haja necessidade (CUNHA et al., 2002).

A obstrução biliar, neste trabalho, foi obtida mediante dupla ligadura e secção do ducto biliar comum com fio de prolene 5-0, de acordo com o método descrito por Lee (1972). Este método garantiu dilatação adequada do ducto biliar, facilidade para realização da anastomose bilioentérica e aproveitamento de 85,3% dos animais. Jalink, Urbanski e Lee (1996), utilizando a técnica descrita obtiveram taxa de insucesso de 10% na obtenção de colestase. O emprego de outros métodos para obstrução biliar, como a ligadura simples favorece a recanalização biliar em aproximadamente 80% dos animais (CASTRO E SILVA JUNIOR, 1986). A técnica de envolvimento de um segmento da via biliar iniciando-se a 3 mm da inserção do primeiro ducto pancreático maior até 2 mm abaixo da junção dos ductos hepáticos, desenvolvida em nosso meio, gera um segmento de fibrose de aproximadamente 5 mm na via biliar e evita sua recanalização (CASTRO E SILVA JUNIOR et al., 1995). Por outro lado, essa técnica dificulta a anastomose após quinze dias de obstrução biliar, pois o segmento dilatado fica muito próximo ao hilo hepático.

As alterações decorrentes da obstrução biliar, no presente estudo, ficaram bem caracterizadas. A cintilografia hepatobiliar dinâmica comprovou a obstrução completa pela ausência do elemento radiativo no intestino delgado. Houve elevação significativa das bilirrubinas totais e frações, das aminotransferases e da fosfatase

alcalina em relação aos animais do grupo controle. Os níveis médios de bilirrubinas totais em mg/dl ($8,76 \pm 1,47$), e FA em U/ml ($206,13 \pm 38,79$) após 2 semanas de obstrução biliar foram semelhantes àqueles registrados por outros autores, respectivamente de $7,11 \pm 1,86$ e $294,94 \pm 121,97$ mediante emprego de técnica de obstrução biliar semelhante ou por meio de envolvimento contínuo do ducto biliar (DUTRA et al., 2008). Essas alterações foram associadas à hepatoesplenomegalia, redução do volume proporcional de hepatócitos, com proliferação intensa de ductos biliares e fibrose no fígado. As alterações foram equivalentes às obtidas por Pandolfi Junior et al. (2001) que adotaram a técnica de obstrução de envolvimento contínuo da via biliar.

O estágio das alterações anatomopatológicas do fígado no modelo experimental empregado no presente estudo caracteriza a fibrose biliar secundária com hipertensão portal. Houve aumento da fração de volume de fibrose e de ductos biliares e redução da fração de volume de hepatócitos. Na vigência de obstrução biliar extra-hepática houve aumento da massa estimada dos hepatócitos, ductos biliares e da fibrose. Assim, a hepatomegalia é decorrente da proliferação ductal e da fibrose, todavia, os achados apontam para a participação da hipertrofia ou hiperplasia dos hepatócitos.

A proliferação hepatocelular não aumenta expressivamente e, aparentemente, a massa de hepatócitos mantém-se na fibrose (JOHNSTONE; LEE, 1976) e na cirrose biliar (GALL; BHATHAL, 1990). 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; BHATHAL, 1990). A estimativa da massa dos componentes histológicos do fígado, utilizando-se de dados morfométricos, reforça o conceito de que os animais sobreviventes à obstrução biliar crônica mantêm a massa hepatocítica (GROSS et al., 1987) ou até aumentam, como foi demonstrado no presente estudo.

A avaliação da lesão hepática verificada neste estudo, através da análise morfométrica dos componentes histológicos, demonstrou semelhança entre os grupos IC, DDpre, DJpre e DJDpre. A hepatomegalia, aqui observada, é decorrente do aumento da massa dos hepatócitos e da massa de fibrose ($7,19 \pm 2,25$) que predominou sobre massa de ductos ($5,38 \pm 2,48$). Como há aumento da massa total dos hepatócitos, as alterações funcionais parecem decorrer da colestase e não da

cirrose (GALL; BHATHAL, 1990; GROSS et al., 1987).

Dentre as três modalidades de derivação bilioentérica empregadas, a DJ e a DJD são mais trabalhosas e potencialmente com maiores riscos de complicações. Na prática clínica, a morbidade e a mortalidade no pós-operatório das derivações DD e DJ são semelhantes e ficam em torno de 11% e 3,8%, respectivamente (PANIS et al., 1993).

A mortalidade global (58,8%) nos animais submetidos à derivação bilioentérica após duas semanas de obstrução biliar, encontrada nesse estudo, foi elevada quando comparada à registrada por outros autores. A mortalidade é proporcional ao tempo decorrido de obstrução biliar, variando de 13 a 27%, 30 a 36% e 50 a 80% após derivação bilioentérica em ratos com 2, 3 e 4 semanas de obstrução biliar, respectivamente (ARONSON et al., 1993; DUTRA et al., 2008; JALINK; URBANSKI; LEE, 1996; RYAN; THAN; BLUMGART, 1977; SANTOS, 2007; ZIMMERMANN et al., 1992).

No presente estudo, os animais submetidos à derivação morreram dentro das primeiras 48 horas, a maioria desses (91%) nas primeiras 24 horas. A extensão do procedimento cirúrgico influenciou a taxa de mortalidade, visto que foram de 30,7%, 63% e 75% para a DD, DJ DJD, respectivamente, as quais demandaram aproximadamente 20 minutos para realização da DD, 40 minutos para DJ e 50 para DJD. A necropsia destes animais não evidenciou sangramento intra-abdominal, as anastomoses estavam pérvias e sem sinais de deiscências, diferente dos achados de sangramentos e obstrução da anastomose jejunojejunal registrados por Jalink, Urbanski e Lee (1996). Os coeficientes elevados e variados de mortalidade, sobretudo no pós-operatório precoce, podem estar relacionados com diferentes graus de lesão hepatocelular decorrentes da obstrução biliar (SANTOS et al., 1996a, 1998), agentes anestésicos empregados e fenômenos de lesão por isquemia e reperfusão do fígado após descompressão biliar (FERREIRA et al., 2008).

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, assim como a dilatação da via biliar pode comprimir o sistema porta, ocasionando decréscimo do fluxo portal (SAKODA; ATIIK, 1970) e desenvolvimento de anóxia ou isquemia funcional dos hepatócitos (ROSELINO; CASTRO E SILVA JUNIOR; CENEVIVA, 1992). O comprometimento

do metabolismo energético acrescido das lesões de reperfusão (CASTRO E SILVA JUNIOR, 1986) e as evidências de edema acentuado do fígado após descompressão biliar no pós-operatório precoce podem justificar a elevada letalidade (TAMAKUMA et al., 1975; STERR et al., 1968).

Ferreira et al. (2008) observaram que ratos com 15 dias de obstrução biliar submetidos a DD apresentavam, após 6 horas, aumento significativo dos níveis de aminotransferases, do consumo de oxigênio mitocondrial basal e ativado, diminuição da razão de controle respiratório e aumento do fator de necrose tumoral alfa. Após 24 horas de desobstrução biliar houve piora das lesões histológicas hepáticas com aparecimento de esteatose e presença de infiltrados de neutrófilos com necrose hepática focal. Dessa forma, as alterações hepáticas que aparecem após a descompressão biliar são compatíveis com a lesão de isquemia e reperfusão e podem contribuir para a mortalidade elevada.

Embora não existam estudos com destaque para a influência dos agentes anestésicos, bem como as dosagens utilizadas e o grau de lesão hepática sobre a mortalidade, é importante relacionar esses fatos com o objetivo de identificar possíveis associações na perspectiva de reduzir o número de animais empregados nesses estudos. Zimmermann et al. (1992), utilizaram o pentobarbital sódico intraperitoneal e encontraram mortalidade de 36% em ratos com 3 semanas de obstrução biliar e 66 % em ratos com 4 semanas de colestase extra-hepática. Jalink, Urbanski e Lee (1996), utilizando anestesia inalatória com halotano 3%, registraram mortalidade de 50% em animais com 28 dias de obstrução biliar. Santos et al. (1998) observaram 66,6% de mortalidade após anestesia com éter sulfúrico em animais com 4 semanas de obstrução biliar. Dutra et al. (2008) obtiveram mortalidade pós-operatória de 27% em animais com 2 semanas de obstrução biliar submetidos à anestesia inalatória com éter sulfúrico. Santos (2007), estudando ratos com cirrose biliar secundária, obteve taxa de mortalidade de 76,19% após DD e 83,05% após DJ com uso de pentobarbital (40 - 60 mg/kg) intraperitoneal.

A intensidade das alterações colestáticas parece ter associação com a mortalidade pós operatória, pois os animais que sobreviveram à derivação biliodigestiva, nesse estudo, apresentavam valores de bilirrubinemia total e direta menores que aqueles registrados no grupo IC. A hiperbilirrubinemia está associada a alterações hemodinâmicas que podem ser responsáveis pelas elevadas taxas de mortalidade pós operatória (KEMP et al., 2008; ZIMMERMANN et al., 1990, 1992)

Após as três modalidades de derivação bilioentérica empregadas, houve redução significativa nos níveis séricos de bilirrubinas totais e frações, aspartatoaminotransferase e da fosfatase alcalina a valores semelhantes aos encontrados no grupo CO. Os níveis elevados de ALT e AST indicam lesão ou necrose hepatocelular. A ALT está localizada primariamente no fígado e confinada ao citoplasma, enquanto AST pode ser isolada no fígado, miocárdio, músculo esquelético, rim, cérebro, pâncreas, células sanguíneas, tanto no citoplasma como na mitocôndria. A origem hepática de um aumento de AST deve ser confirmada pelos níveis de ALT (AHAMED; KEEFFE, 2006). Nesse estudo não foi verificado elevação significativa da ALT nos grupos submetidos à derivação biliar em comparação ao grupo CO. Esse achado, associado a não observância de necrose hepatocelular registrada em modelos experimentais semelhantes, reforça o papel da obstrução biliar na produção das lesões descritas (SANTOS et al., 1998; ZIMMERMANN et al., 1990, 1992).

A seleção da modalidade de derivação biliodigestiva a ser empregada no tratamento da obstrução biliar extra-hepática ainda é motivo de controvérsia. A DD é tecnicamente mais simples e mais fisiológica, porém a presença do REB pode propiciar colangites (MORACA et al., 2002; VOGT; HERMANN, 1980). A DJ desvia o trânsito gastrintestinal da via biliar minimizando o REB, porém é um procedimento mais complexo, requer duas anastomoses e a exclusão de um segmento de alça jejunal do trânsito intestinal propicia o desenvolvimento de distúrbios motores que podem gerar estase e colangite (DUCROTTE et al., 2001; KLAUS et al., 2001, 2003).

Após as três modalidades de derivação biliar empregadas, o estudo da excreção hepatobiliar demonstrou que as anastomoses bilioentéricas estavam pérvias e houve recuperação do fluxo hepatobiliointestinal tomando como base a normalização dos parâmetros da cintilografia hepatobiliar dinâmica (TMax, $T^{1/2}$) e o aparecimento do radiotraçador no intestino delgado.

Neste estudo, a DJ foi realizada com a alça exclusiva em Y de Roux de 15 cm, com base no que é preconizado para o homem. O comprimento total do jejuno e do íleo, no homem é de cerca de 260 cm e o tamanho da alça usualmente empregada no Y de Roux é de aproximadamente 40 cm, o que corresponde a 15% do intestino delgado (CHENG et al., 1995). 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 desenvolvimento de colestase e colangite pós-operatória em 10 a 15% nos pacientes submetidos à derivação biliojejunal (BISMUTH et al., 1978) deve-se na maioria das vezes a obstáculos mecânicos. Todavia, quando ausentes, a colestase e a proliferação bacteriana podem ser atribuídas a distúrbios motores da alça de Roux, oriundos da perda da influência do marca-passo duodenal e do desenvolvimento de novo marca-passo ineficaz, no meio da alça exclusiva, que gera contrações de baixa frequência e algumas vezes em sentido retrógrado (KLAUS et al., 2001; MIEDEMA et al., 1992; VANTRAPPEN et al., 1991).

Estudos clínicos como o realizado por Hashimoto e Ohyanagi (2000) comparando pacientes submetidos à DD e DJ reforçam a influência de distúrbios motores na DJ. Os autores registraram maior incidência de colangite (12%) e estase de bile na alça de Roux, com retardo significativo do fluxo biliar até o jejuno proximal (65 ± 5 min) em comparação ao tratamento com DD (35 ± 5 min) e em pessoas saudáveis (40 ± 5 min), mediante realização da cintilografia hepatobiliar com DISIDA. A equivalência experimental, em ratos, deste ensaio clínico foi demonstrada por Dutra et al. (2008) ao verificarem, através de estudos cintilográficos, refluxo enterobiliar igualmente presente na DD e DJ, com estase do fluxo biliar mais importante nesta última.

A anastomose duodenojejunal laterolateral proposta por Hashimoto, Kotoura e Ohyanagi (2005) como alternativa para minimizar as complicações provenientes da alça exclusiva do Y de Roux tem a vantagem de manter o duodeno no trânsito intestinal, garantir acesso à via biliar e potencialmente prevenir a estase e o refluxo enterobiliar. Os autores deste estudo encontraram menor incidência de colangite pós-operatória e esvaziamento biliar em tempos mais fisiológicos nos pacientes submetidos à DJD quando comparados com DJ.

A cintilografia hepatobiliar dinâmica desenvolvida por Harvey et al. (1979) se tornou um método bem estabelecido no diagnóstico diferencial das causas de colestase, sejam estas oriundas de obstrução biliar intra ou extra-hepática (ROSENTHALL; SHAFFER; LISBONA, 1978). Os agentes empregados na cintilografia hepatobiliar são derivados do ácido iminodiacético (IDA), facilmente marcados com Tecnécio^{99m} e secretados, sem metabolismo e sem circulação entero-hepática, pelo hepatócito. Estudos anteriores empregando a primeira geração de componentes de IDA registravam baixa acurácia na detecção de obstrução biliar por apresentar excreção hepática lenta e menor capacidade de competição com a

bilirrubina na captação hepática em pacientes ictericos (GROSS et al., 1983; O'CONNOR et al., 1983; MATZEN et al., 1983; WISTOW et al., 1978). O ácido 2,6-diisopropilacetanilido iminodiacético (DISIDA) atualmente empregado apresenta maior afinidade para a captação hepática em pacientes com colestase (KLINGENSMITH et al., 1981), e garante visualização adequada com níveis de bilirrubina de até 20 mg/dl (STADALNIK et al., 1981).

A DISIDA-Tc^{99m} é captada do sinusóide hepático pelo hepatócito, transportada em seu interior, secretada no sistema canalicular biliar e finalmente excretada para o intestino delgado (LARAR; TUMEH, 1992). Dessa forma, avalia a função excretora hepática e a permeabilidade do sistema biliar e apresenta sensibilidade e especificidade para prover informações anatômicas e funcionais sobre o fígado e a via biliar (EGBERT et al., 1983).

A combinação do Disida Tecnécio ^{99m} garante que o isótopo injetado por via endovenosa seja captado pelo fígado e cerca de 85% excretado pelas vias biliares (BALON et al., 1997). Os parâmetros mais frequentemente empregados são o tempo de atividade hepática máxima (TMax) e o tempo para eliminação de cinquenta por cento do elemento radiativo captado pelo fígado (T^{1/2}), avaliados através da curva de atividade/tempo. Utiliza-se também, o tempo de aparecimento do elemento radioativo no intestino delgado que é avaliado visualmente, por isso, menos sensível (CORAZZIARI et al., 2003; CRAIG et al., 2003).

No presente trabalho, o TMax e T^{1/2} de eliminação hepática foram atingidos rapidamente no grupo CO e nos 3 grupos submetidos à derivação biliar. Nos animais do grupo IC, ocorreu retardo significativo do TMax e do T^{1/2}, com ausência de excreção da substância radioativa para o intestino delgado. Neste grupo, a queda na intensidade da contagem radioativa, observada na curva atividade/tempo, deve-se à excreção renal do radiotraçador. Após a obstrução biliar o T^{1/2} da excreção hepática matem-se próximo dos valores normais (KRISHNAMURTHY et al., 1983), com a progressão da obstrução biliar observa-se aumento paralelo do T^{1/2} (LIBERMAN; KRISHNAMURTHY et al., 1986), até a interrupção da secreção hepática para o sistema canalicular, de TC^{99m} IDA, resultando na ausência da visualização de toda a árvore biliar e do intestino delgado (LECKLITNER et al., 1986).

A obstrução biliar extrahepática causa aumento da pressão hidrostática intraductal até o comprometimento da função excretora hepatocítica (LANAR; TUMEH, 1992), o que causa refluxo para o sinusóide do radiofármaco captado pelo

hepatócito. O estudo cintilográfico no presente trabalho demonstrou que a média para o aparecimento do radiotraçador no intestino delgado no grupo CO foi de 93,75 segundos, cerca de quarenta segundos menor que dos animais submetidos à derivação biliar. Este resultado não demonstra prejuízo da função excretora hepática após as cirurgias de derivação biliar aqui estudadas, já que o TMax e $T^{1/2}$ retornaram a valores semelhantes ao CO após o tratamento. Esses achados contrastam com os descritos por Dutra et al. (2008), Hashimoto e Ohyanagi (2000) e Hashimoto, Kotoura e Ohyanagi (2005).

O prolongamento anormal da fase excretora do renograma pode ser quantificado pela medida da atividade cortical residual utilizando as razões das contagens de 20 ou 30 minutos pelo pico de atividade máxima. Essa razão é inversamente proporcional ao índice de excreção e é satisfatoriamente utilizada para avaliar pacientes com obstrução do trato urinário (ANDERSON; RANGARAJAN; GORDON, 1998; TAYLOR, 1999). Similarmente ao R20/Max do córtex renal, tomando-se o fígado como região de interesse, este parâmetro avalia a obstrução do fluxo biliar ao quantificar o grau da colestase residual aos 20 minutos de exame em relação ao pico de atividade hepática máxima.

Nesse estudo, após DJD não houve recuperação completa do R20/Max ($0,21 \pm 0,05$) em relação ao CO ($0,12 \pm 0,01$), apesar da normalização de Tmax e $T^{1/2}$, e da comprovação visual do radiofármaco no intestino delgado em tempos semelhantes à DD e DJ. A alteração do R20/Max, aqui observada, pode decorrer da presença de estase na alça jejunal exclusiva oriunda de distúrbios do complexo motor migratório (KARLSTROM; KELLY, 1989; KLAUS et al., 2001; TELFORD; TELFORD; SARNA, 1993; TU; KELLY, 1999; VAN STIEGMANN; GOFF, 1988). Por outro lado, esse fenômeno não ocorreu após a DJ, cuja estase na alça jejunal exclusiva já foi registrada em estudo realizado no nosso meio (DUTRA et al., 2008). É provável que a estase associada à variação na intensidade do refluxo enterobiliar justifique os achados registrados após DJD.

No presente experimento, a distância entre a anastomose biliojejunal e duodenojejunal foi de 5 cm, o que corresponde, no homem, a uma alça de cerca de 13 cm. A distância entre a anastomose biliar e duodenojejunal não foi referida no estudo de Hashimoto, Kotoura e Ohyanagi (2005), mas em estudo de 8 pacientes portadores de litíase intra-hepática primária tratados cirurgicamente através de anastomose hepaticojejunal em Y de Roux, Cunha et al. (2002) realizaram uma

anastomose duodenojejunal a 20 cm da anastomose biliar com o propósito de garantir acesso endoscópico à via biliar. Além de garantir o acesso endoscópico a via biliar intra-hepática, os autores observaram que este comprimento de alça foi suficiente para prevenir colangite no pós-operatório. No presente estudo, além da facilidade técnica, a definição do comprimento de alça entre a anastomose biliar e duodenojejunal foi baseada na semelhança dos efeitos sobre a colestase e a reparação morfológica e metabólica do fígado após DJ confeccionada com alça jejunal exclusiva de 5 e 10 cm (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001).

A via biliar derivada pode atuar como uma estrutura passiva na anastomose bilioentérica (MORGENSTERN; SHORE, 1970). Após as derivações biliodigestivas, há redução da pressão positiva do ducto biliar em virtude da eliminação funcional do mecanismo esfínteriano. Assim as oscilações de pressão no interior do intestino decorrentes da ação do peristaltismo intestinal sobrepõem-se à pressão da via biliar, criando uma situação de livre circulação do conteúdo entérico para a via biliar e para os canalículos intra-hepáticos.

A relação aumentada R20/Max na DJD em relação ao grupo CO registrada no presente estudo pode refletir não somente a dismotilidade proveniente da alça jejunal exclusiva, mas a presença de obstrução biliar parcial e transitória de forma mais intensa, oriunda de debris e da contaminação provocadas pelo refluxo do conteúdo entérico para a via biliar (GOLDMAN; STEER; SILEN, 1983; SANTOS et al., 1998; SANTOS et al., 2005; SANTOS, 2007). A anastomose duodenojejunal confeccionada a 5 cm da anastomose biliar, realizada com a intenção de descomprimir a alça jejunal do Y de Roux, poderia também propiciar o fluxo retrógrado do conteúdo entérico para a via biliar diante da interposição de uma alça jejunal de comprimento insuficiente e disfuncionalizada.

O refluxo enterobiliar não foi avaliado quantitativamente neste estudo, no entanto provavelmente na DD este ocorra de forma mais intensa, pois nessa modalidade, a recuperação das lesões da arquitetura hepática foi parcial, como também já foi demonstrado (SANTOS et al., 1996a, 1998). No entanto, a ausência de componente obstrutivo ao fluxo biliar e de colestase residual, avaliados pelos métodos cintilográficos e bioquímicos sugerem que a estase decorrente do refluxo enterobiliar ocorre transitoriamente, de forma intermitente e com baixa pressão nos ductos biliares, como já foi sugerido por Dutra et al. (2008).

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 CE 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).

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 CE 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).

No presente estudo, a hipertensão portal foi avaliada pela presença de esplenomegalia que regrediu após alívio da colestase e resolução parcial das lesões estruturais do fígado. A associação entre recuperação das lesões fibróticas do fígado e regressão da esplenomegalia após descompressão biliar foi observada em outros estudos experimentais (SANTOS et al., 1998; ZIMMERMANN et al., 1992).

Os animais com 15 dias de obstrução biliar apresentaram aumento significativo das CE, paralelamente ao aumento da fibrose e ductos biliares. A obstrução biliar promove aumento da pressão canalicular (SLOTT; LIU; TAVOLONI, 1990), que associada ao acúmulo de bilirrubina e ácidos biliares estimula a hiperplasia e proliferação do epitélio canalicular. Instala-se um processo inflamatório discreto, acompanhado da proliferação e ativação das células estreladas hepáticas (CLÉMENT et al., 1993), as quais estão entre as principais fontes de deposição de fibrose, em especial o colágeno tipo I, na matriz extracelular. As CE geram fibrose não apenas pelo aumento do seu número, mas também pelo aumento individual da produção de matriz extracelular (FRIEDMAN, 2008b).

No presente estudo, as três modalidades de derivação biliar promoveram redução similar do número de CE, que foi acompanhada pela regressão da massa de fibrose e de ductos biliares, além da recuperação da massa estimada do baço. Há relatos na literatura ressaltando retardo na regressão da hipertensão portal, indicando descompasso entre a recuperação histológica e a reparação do fluxo

portal (ARONSON et al., 1993; KRÄHENBÜHL; SHAFNER; KRÄHENBÜHL, 1998; ZIMMERMANN et al., 1992). Outros registros relatam aumento da pressão nas veias hepáticas e persistência de hipertensão portal após DD (FRANCO et al., 1979). Neste trabalho, assim como em estudo realizado por Santos et al. (1998), houve regressão da hipertensão portal avaliada pela normalização da massa estimada do baço.

A razão para o retardo na recuperação da hipertensão portal não está completamente esclarecida, mas pode ser decorrente da persistência da proliferação de CE (ZIMMERMANN; FELLAY; ZIMMERMANN, 1997). A associação entre a redução da esplenomegalia e a diminuição do número de células estreladas hepáticas pode ser verificada neste estudo. A diminuição significativa do número de CE após a descompressão biliar em níveis semelhantes ao grupo CO, neste experimento, foi acompanhada pela diminuição significativa da massa de fibrose e da esplenomegalia. A associação entre a regressão da fibrose e da pressão portal pode ser observada em outros modelos experimentais (OREGO et al., 1981; REICHEN, 1988; ZIMMERMANN et al., 1992). Os resultados aqui demonstrados assim como outros estudos reforçam a associação entre apoptose das células estreladas e a resolução da fibrose hepática (ISSA et al., 2001; IREDALE, 2001; ROCKEY et al., 1994).

Os grupos submetidos à derivação biliar, após 2 meses apresentaram reparação significativa na fração de volume de hepatócitos, ductos biliares e fibrose nas três modalidades de operações empregadas. Todavia, após DD a fração de volume de hepatócitos permaneceu significativamente menor enquanto a de fibrose foi maior em relação ao grupo CO. A manutenção de fibrose residual e menor fração de volume de hepatócitos na DD estão relacionadas, provavelmente, a presença do refluxo enterobiliar, contaminação da via biliar e manutenção da inflamação por episódios de colangite. Esse fenômeno já foi demonstrado experimentalmente mediante cultura da bile e inspeção direta das anastomoses em que foram observados restos alimentares e pêlos ocupando as anastomoses, o ducto biliar e a alça aferente da DJ, inclusive às vezes formando tricobezoares nas vias biliares de ratos submetidos à DD (SANTOS et al., 1998; SANTOS, 2007).

Há também registros clínicos inclusive com impactação de material nas anastomoses bilioduodenais e biliojejunais (DE MOOR et al., 2002; MORRISSEY; BURNS; COHN, 1995). Há experimento realizado em nosso meio, em ratos, onde se

demonstrou por método cintilográfico a presença de refluxo enterobiliar de forma semelhante na DD e DJ (DUTRA et al., 2008). Desta maneira, o distanciamento do conteúdo entérico da via biliar, não evita o refluxo enterobiliar, mas parece influenciar na reparação das lesões histológicas hepáticas.

A obstrução biliar provocou aumento significativo da massa estimada de fibrose, dos ductos biliares e outros elementos histológicos. Essas alterações foram acompanhadas de hepatomegalia e esplenomegalia. As três modalidades de derivação biliar empregadas reduziram de forma significativa a massa estimada desses componentes histológicos a ponto de não existir diferença com o grupo controle após DJ e DJD. Entretanto após DD a massa estimada de hepatócitos foi significativamente menor em relação ao CO. Essa desvantagem, no reparo das lesões anatomopatológicas do fígado, após DD, em comparação com a DJ já foi registrada em outros estudos realizados em nosso meio (PANDOLFI JUNIOR et al., 2001; SANTOS et al., 1998; SANTOS, 2007). As alterações histológicas da DD observadas nestes trabalhos e no presente estudo podem ser originadas da circulação do conteúdo entérico na via biliar que propicia a proliferação bacteriana e a inflamação nos espaços portais, mesmo com anastomose biliar ampla e pérvia (SANTOS, 1997).

A estase originária do arrolhamento dos resíduos alimentares refluídos pode resultar em proliferação e translocação bacteriana para o fígado (VANTRAPPEN et al., 1977; CHUANG et al., 1998), além de promover a passagem de bactérias pelos hepatócitos, com destruição das junções celulares e o aparecimento de colangites (TOYOTA et al., 1984).

Os estudos do fluxo hepatobiliointestinal e do refluxo enterobiliar após derivação biliar são escassos. Há registros clínicos quantitativos de estase na alça exclusiva do Y de Roux (HASHIMOTO; OHYANAGI, 2000; HASHIMOTO; KOTOURA; OHYANAGI, 2005) e qualitativos. O registro experimental quantitativo do fluxo hepatobiliointestinal avaliado por cintilografia, realizado em nosso meio, confirma os achados clínicos (DUTRA et al., 2008). Por outro lado, a avaliação quantitativa do refluxo por meio de substâncias marcadas pode ser mais complexa e não representar o que já foi demonstrado em achados clínicos e experimentais de inspeção. O registro do trânsito enterobiliar em ratos mediante administração de dieta radioativa, utilizando-se o Fitato tecnécio ^{99m} aos 15 minutos e 4 horas, pode representar o que ocorre no período pós-prandial precoce e tardio, mas não revela o

que ocorre nesse intervalo (DUTRA et al., 2008). Embora os autores tenham observado refluxo enterobiliar de forma equivalente com a DD e a DJ, a análise gráfica permite inferir que o refluxo é maior após DD aos 15 minutos. Os próprios autores especulam que provavelmente o REB seja maior na DD, principalmente no período precoce, haja vista à passagem obrigatória dos alimentos pela anastomose. Desta maneira, o refluxo avaliado de forma pontual deve estar subestimado e se faz necessário o desenvolvimento de metodologia quantitativa para a avaliação do REB de forma dinâmica, durante todo o período de trânsito do bolo alimentar até sua chegada no ceco.

Em resumo, a técnica de obstrução biliar empregada neste estudo produziu alterações hepáticas compatíveis com colestase extra-hepática crônica e fibrose biliar secundária. As três modalidades de derivação biliar empregadas reverteram a colestase, as lesões hepáticas crônicas e a esplenomegalia, mas a DJ, que manteve o trânsito alimentar distante da via biliar, apresentou melhor desempenho na reparação das alterações anatomopatológicas hepáticas decorrentes da obstrução biliar. O refluxo enterobiliar pode ter contribuído para a redução da massa hepatocítica após DD e a estase após DJD. Assim, as alternativas que minimizam o refluxo enterobiliar deveriam ser empregadas para garantir a reparação das alterações decorrentes da obstrução biliar e preservar o fígado de lesões adicionais inerentes ao tratamento.

7 CONCLUSÃO

O percurso metodológico empregado para estudar a influência das três modalidades de derivação biliodigestiva no reparo das alterações hepáticas de ratos com fibrose biliar secundária nos permite concluir que:

- As três modalidades de derivação biliar empregadas têm desempenho similar na regressão da colestase e da esplenomegalia
- A interposição da alça jejunal entre a via biliar e o trânsito intestinal pode retardar o fluxo hepatobiliar, mas é mais efetiva na reparação das lesões hepáticas.

REFERÊNCIAS¹

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

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. **American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 137, p. 1333-1342, 1990.

ADSON, M. A.; WYCHULIS, A. R. Portal hipertension in secondary biliary cirrhosis. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 96, p. 604-612, 1968.

AHMED, A.; KEEFFE, E. B. Liver chemistry and function tests. In: **Sleisenger and Fortran's gastrointestinal and liver disease**. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006. Chap. 70, p. 1575-1587.

ANDERSEN, M. L.; ALMEIDA, V. A.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F.; MAGALHÃES, L. E.; TUFIK, S.; GUIMARÃES, M. A.; MÁZARO, R. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – Escola Paulista de Medicina, Departamento de Psicobiologia. São Paulo: Cromosete, 2004.

ANDERSON, P. J.; RANGARAJAN, V.; GORDON, I. Assessment of drainage in PUJ obstruction: pelvic excretion as an index of renal function. **Nuclear Medicine Communications**, London, v. 19, p. 492, 1998.

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? **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 18, p. 85-95, 1993.

BALON H. R.; FINK-BENNET D. M.; BRILL B. R.; FIG L. M.; FREITAS J. E.; KRISHNAMURTHY G. T.; KLINGENSMITH III W. C.; ROYAL H. D. Procedure guidelines for hepatobiliary scintigraphy. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v.38 , n.10, p. 1654-1657, 1997.

BEAUSSIER, M.; WENDUM, D.; SCHIFFER, E.; DUMONT, S.; REY, C.; LIENHART, A.; HOUSSET, C. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries. **Laboratory Investigation**, Hagerstown, v. 87, p. 292-303, 2007.

BISMUTH, H.; FRANCO, D.; CORLETTE, M. B.; HEPP, J. Long term results of Roux-en-Y hepaticojejunostomy. **Surgery, Gynecology and Obstetrics**, Chicago, v. 146, n. 2, p. 161-167, 1978.

BLANKENSTEIJN, J. D.; TERPSTRA, O. T. Early and late results following choledochoduodenostomy and choledochojejunostomy. **HPB Surgery: A World Journal of Hepatic, Pancreatic and Biliary Surgery**, New York, v. 2, p. 151-158, 1990.

BLUMGART, L. H. Biliary tract obstruction: new approaches to old problems. **American Journal of Surgery**, New York, v. 135, p. 19-31, 1978.

BUENO, L.; FERRE, P.J.; RUCKEBUSCH, Y. Effects of anesthesia and surgical procedures on intestinal myoelectric activity in rats. **The American Journal of Digestive Diseases**, New York, v. 23, n. 8, p. 690-695, 1978.

BUNTON, G. L.; CAMERON, R. Regeneration of liver biliary cirrhosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 111, p. 412-21, 1963.

CASTRO E SILVA JUNIOR, O. **Função mitocondrial do fígado durante a obstrução biliar extra-hepática e após drenagem cirúrgica das vias biliares: efeito da clorpromazina**. 1986. 137 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1986.

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 Sur**, Valencia, v. 7, p. 42-44, 1995.

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

CHUANG, J. H.; CHEN, W. J.; LEE, S. Y.; CHANG, N. K. Prompt colonization of the hepaticojejunostomy and translocation of bacteria to liver after bile duct reconstruction. **Journal of Pediatric Surgery**, Philadelphia, v. 33, p. 1215-1218, 1998.

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

CORAZZIARI, E.; CICALA, M.; SCOPINARO, F.; SCHILLACI, O.; HABIBI, I. F.; PALLOTTA, N. Scintigrafic assessment of SO dysfunction. **Gut**, London, v. 52, p. 1655-1658, 2003.

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

COX, D. R.; OAKES, D. **Analysis of survival data**. London: Chapman & Hall, 1984.

CRAIG, A. G.; PETER, D.; SACCONI, G. T. P.; ZIESING, P.; WYCHERLEY, A.; TOOULI, J. Scintigraphy versus manometry in patients with suspect biliary sphincter of Oddi dysfunction. **Gut**, London, v. 52, p. 352-357, 2003.

CUNHA, J. E. M.; HERMAN, P.; MACHADO, M. C. C.; PENTEADO, S.; MALUF FILHO, F.; JUKEMURA, J.; BACCHELLA, T.; ABDO, E. A new biliary access technique for the long-term endoscopic management of intrahepatic stones. **Journal of Hepatobiliary Pancreatic Surgery**, Tokyo, v. 9, p. 261-264, 2002.

DE MOOR, V.; EL NAKADI, I.; JEANMART, J.; GELIN, M.; DONCKIER, V. Cholangitis caused by Roux en Y hepaticojejunostomy obstruction by a biliary stone after liver transplantation. **Transplantation**, Hagerstown, v. 75, n. 3, p. 416-418, 2002.

DUCROTTE, P.; PEILLON, C.; GUILLEMOT, F.; TESTART, J.; DENIS, P. Could recurrent cholangitis after Roux-en-Y hepaticojejunostomy be explained by motor intestinal anomalies? A manometric study. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 86, p. 1255-1258, 1991.

DUFFIELD, J.S.; FORBES, S.J.; CONSTANDINO, C. M.; CLAY, S.; PARTOLINA, M.; VUTHOORI, S.; WU, S.; LANG, R.; IREDALE, J. P. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 11, p. 56-65, 2005.

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. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 53, n. 4, p. 1138-1145, 2008.

EGBERT, R. N.; BRAUNSTEIN, P.; LYONS, P. K.; MILLER, D. R. Total bile duct obstruction. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 118, p. 709-712, 1983.

ESCUDERO-FABRE, A.; ESCALLON, A. J. R.; SACK, J.; HALPERN, N. B.; ALDRETE, J. S. Choledochoduodenostomy – Analysis of 71 cases followed for 5 to 15 years. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 213, p. 635-644, 1991.

FALLOWFIELD, J. A.; MIZUNO, M.; KENDALL, T. J.; CONSTANDINOU, C. M.; BENYON, R. C.; DUFFIELD, J. S.; IREDALE, J.P. Scar-associated macrophages are a major source of hepatic matrix metalloproteinase-13 and facilitate the resolution of murine hepatic fibrosis. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 178, p. 5288–5295, 2007.

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. 693-698, 1997.

FELDMANN, G. Critical analysis of the methods used to morphologically quantify hepatic fibrosis. **Journal of Hepatology**, 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 obstructions followed by lesions ischemia and reperfusion-induced. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 47-52, 2008.

FIBBI, G.; PUCCI, M.; GRAPPONE, C.; PELLEGRINI, G.; SALZANO, R.; CASINI, A.; MILANI, S.; DEL ROSSO, M. Functions of the fibrinolytic system in human Ito cells and its control by basic fibroblast and platelet-derived growth factor. **Hepatology**, Baltimore, v. 29, p. 868-878, 1999.

FORBES, S. J.; RUSSO, F. P.; REY, V.; BURRA, P.; RUGGE, M.; WRIGHT, N. A.; ALISON, M. R. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 126, p. 955–963, 2004.

FRANCO, D.; GIGOU, M.; SZEKELY, A.; BISMUTH, H. Portal hypertension after bile duct obstruction. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 114, p. 1064-1067, 1979.

FRIEDMAN, S. L. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 328, p.1828–1835, 1993.

FRIEDMAN, S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 134, n. 6, p. 1655-1669, 2008a.

FRIEDMAN, S. L. Hepatic fibrosis – overview. **Toxicology**, Limerick, v. 254, p. 120-129, 2008b.

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. 116-125, 1990.

GIBSON, W. R.; ROBERTSON, H. E. So-called biliary cirrhosis. **Archives of Pathology**, Chicago, v. 28, p. 37-49, 1939.

GOLDMAN, L. D.; STEER, M. L.; SILEN, W. S. Recurrent cholangitis after biliary surgery. **American Journal of Surgery**, New York, v. 145, p. 450-454, 1983.

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. 457-463, 1987.

GROSS, B. H.; HARTER, L. P.; GORE, R. M.; CALLEN, P. W.; FILLY, R. A.; SHAPIRO, H. A.; GOLDBERG, H. I. Ultrasonic evaluation of common bile duct stones: prospective comparison with endoscopic retrograde cholangiopancreatography. **Radiology**, Easton, v. 146, p. 471-474, 1983.

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. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 344, n. 6, p. 418-423, 2001.

HARVEY, E.; LOBERG, M.; RYAN, J.; SIKORSKI, S.; FAITH, W.; COOPER, M. Hepatic clearance mechanism of Tc-99m-HIDA and its effect on quantitation of hepatobiliary function: Concise communication. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 20, p. 310-313, 1979.

HASHIMOTO, N.; OHYANAGI, H. Hepatobiliary Scintigraphy after biliary reconstruction – A comparative study on Roux-Y and ESCD. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 47, p. 1210-1212, 2000.

HASHIMOTO, N.; KOTOURA, Y.; OHYANAGI, H. Hepatobiliary scintigraphy after biliary reconstruction Roux Y and RY-dj. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 52, p. 200-202, 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.; GOLUB, O. J.; BERKMAN, S. Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 34, p. 381-398, 1960.

HUANG, T.; BASS, J. A.; WILLIAMS, R. D. The significance of biliar cholangitis. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 98, p. 629-632, 1969.

HUGUIER, M.; LACAINE, F.; HOURY, S.; PASCAL, G. Choledochoduodenostomy for calculous biliary tract disease. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 120, p. 241-242, 1985.

IREDALE, J. P. Hepatic Stellate cell behavior during resolution of liver injury. **Seminars in Liver Diseases**, New York, v. 21, p. 427-436, 2001.

ISSA, R.; WILLIAMS, E.; TRIM, N.; KENDALL, T.; ARTHUR, M. J.; REICHEN, J.; BENYON, R. C.; IREDALE, J. P. Apoptosis of hepatic stellate cells: involvement in resolution of biliary fibrosis and regulation by soluble growth factors. **Gut**, London, v. 48, p. 548-557, 2001.

JAESCHKE, H. Mechanisms of liver injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. **The American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 290, p. G1083-G1088, 2006.

JAESCHKE, H. Inflammation in response to hepatocellular apoptosis. **Hepatology**, Baltimore, v. 35, p. 964-966, 2002.

JALINK, D.; URBANSKI, S.J.; LEE, S.S. Bilioenteric anastomosis reverses hyperkinetic circulation in bile duct-ligated cirrhotic rats. **Journal of Hepatology**, Copenhagen, v. 25, p. 924-931, 1996.

JHANDIER, M. N.; KRUGLOV, E. A.; LAVOIE, E. G.; SÉVIGNY, J.; DRANOFF, J. A. Portal fibroblasts regulate the proliferation of bile duct epithelia via expression of NTPDase2. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 280, p. 22986-22992, 2005.

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

KARLTROM, L.; KELLY, K. A. Ectopic jejunal pacemakers and gastric emptying after Roux gastrectomy: effect of intestinal pacing. **Surgery**, St Louis, v. 106, p. 867-871, 1989.

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. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 213, p. 815-823, 1993.

KEMP, R.; CASTRO E SILVA JUNIOR, O.; SANTOS, J. S.; SANKARANKUTTY, A. K.; CORREA, R. B.; BALDO, C. F.; SOUZA, M. E. J.; JORDANI, M. C. Evaluation of the mitochondrial respiration of cardiac myocytes in rats submitted to mechanical bile duct obstruction. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 23, p. 66-71, 2008. Supplement 1.

KISSELEVA, T.; UCHINAMI, H.; FEIRT, N.; QUINTANA-BUSTAMANTE, O.; SEGOVIA, J. C.; SCHWABE, R. F.; BRENNER, D. A. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. **Journal of Hepatology**, Oxford, v. 45, p. 429-438, 2006.

KLAUS, A.; WEISS, H.; KRECZY, A.; EIGENTLER, A.; NEHER, C.; MARGREITER, R.; PERNTHALER, H. A new biliodigestive anastomosis technique to prevent reflux and stasis. **American Journal of Surgery**, New York, v. 182, p. 52-57, 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. **American Journal of Surgery**, New York, v. 186, p. 747-51, 2003.

KLINGENSMITH, W. C.; FRITZBERG, A. R.; SPITZER, V. M.; KUNI, C. C.; SHANAHAN, W. S. Clinical comparison of diisopropyl-IDA Tc-99m and diethyl-IDA Tc-99m for evaluation of the hepatobiliary system. **Radiology**, Easton, v. 140, p. 791-795, 1981.

KNITTEL, T.; FELLMER, P.; RAMADORI, G. Gene expression and regulation of plasminogen activator inhibitor type I in hepatic stellate cells of rat liver. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 111, p. 745-754, 1996.

KONTOURAS, J.; BILLING, B. H.; SCHEUER, P. J. Prolonged bile duct obstruction: A new experimental model for cirrhosis in the rat. **British Journal of Experimental Pathology**, London, v. 65, p. 305-311, 1984.

KRÄHENBÜHL, L.; SCHAFNER, M.; KRÄHENBÜHL, S. Reversibility of hepatic mitochondrial damage in rats with long-term cholestasis. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 28, p. 1000-1007, 1998.

KRISHNAMURTHY, G. T.; BOBBA, V. R.; MCCONNELL, D. et al. Quantitative biliary dynamics: introduction of a new noninvasive scintigraphic technique. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 24, p. 217-223, 1983.

LARAR, G. N.; TUMEH, S. S. Intrahepatic versus extrahepatic cholestasis in hepato biliary scintigraphy. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 33, n. 6, p. 1186-1190, 1992.

LECKLITNER, M. L.; AUSTIN, A. R.; BENEDETTO, A. R.; GROWCOCK, G. W. Positive predictive value of cholescintigraphy in common bile duct obstruction. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 27, p. 1403-1406, 1986.

LEE, E. The effect of obstructive jaundice on the migration of retroblasts into early experimental granulomata. **The British Journal of Surgery**, Chichester, v. 59, p. 875, 1972.

LEEVY, C. M.; DVORSCHACK, C. K.; GNASSI, A. M. The liver in extrahepatic biliary obstruction. **The American Journal of the Medical Sciences**, Philadelphia, v. 227, p. 272-278, 1954.

LIBERMAN, D. A.; KRISHNAMURTHY, G. T. Intrahepatic versus extrahepatic cholestasis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 90, p. 734-743, 1986.

LITTELL, R. C.; MILLIKEN, G. A.; SROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D. **SAS System for Mixed Models**. Cary: SAS Institute, 1996.

LONGMIRE, W. P.; TOMPKINS, R. K. Lesions of segmental and lobar hepatic ducts. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 182, p. 478-495, 1975.

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. **American Journal of Surgery**, New York, v. 109, p. 89-99, 1965.

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

MATTHEWS, J. B.; BAER, H. U.; SCHWEIZER, W. P. Recurrent cholangitis with and without anastomotic stricture after biliary-enteric bypass. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 128, p. 269-272, 1993.

MATZEN, P.; MALCHOW-MOLLER, A.; BRUN, B.; GRØNVALL, S.; HAUBEK, A.; HENRIKSEN, J. H.; LAURSEN, K.; LEJERSTOFTE, J.; STAGE, P.; WINKLER, K.; JUHL, E. Ultrasonography computed tomography and cholescintigraphy in suspected obstruction jaundice. A prespective comparative study. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 84, p. 1492-1497, 1983.

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. 1133-1143, 1992.

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

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. **Archives of Surgery**, 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. **American Journal of Surgery**, New York, v. 119, p. 38-44, 1970.

MORRISSEY, P. E.; BURNS, G. A.; COHN, S. M. Sump syndrome complicating Roux en Y hepaticojejunostomy: Case report and review of literature. **Surgery**, St Louis, v. 119, n. 4, p. 403-405, 1995.

MURPHY, F.R.; ISSA, R.; ZHOU, X.; RATNARAJAH, S.; NAGASE, H.; ARTHUR, M. J.; BENYON, C.; IREDALE, J. P. Inhibition of apoptosis of activated hepatic stellate cells by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is mediated via effects on matrix metalloproteinase inhibition: implications for reversibility of liver fibrosis. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 277, p. 11069–11076, 2002.

NAGAI, T.; YAMAKAWA, T. Experimental model with bilioenteric anastomosis in rats. Technique and significance. **Hepatogastroenterology**, Stuttgart, v. 39, p. 309-313, 1992.

O'CONNOR, K. W.; SNODGRASS, P. J.; SWONDER, J. F.; MAHONEY, S.; BURT, R.; COCKERILL, E. M.; LUMENG, L. A blinded prospective study comparing four current non-invasive approaches in the differential diagnosis of medical vs surgical jaundice. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 84, p. 1498-1504, 1983.

ORREGO, H.; BLENDIS, L.M.; GROSSELY, I.R.; MEDLINE, A.; MACDONALD, A.; RITCHIE, S.; ISRAEL, Y. Correlation of intrahepatic pressure with collagen in the Disse space and hepatomegaly in humans and the rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 80, p. 546-556, 1981.

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 Cirúrgica Brasileira**, 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. **Surgery, Gynecology and Obstetrics**, Chicago, v. 177, p. 34-37, 1993.

PAROLA, M.; ROBINO, G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. **Journal of Hepatology**, Oxford, v. 35, p. 297-306, 2001.

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. 622-624, 2001.

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.

REICHEN, J. Etiology and pathophysiology of portal hypertension. **Zeitschrift für Gastroenterologie**, München, v. 26, n. 2, p. 3-7, 1988.

REITMAN, S.; FRANKEL, S. A. Calorimetric method for the determining of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 28, p. 56-63, 1957.

ROCKEY, D. C.; CHUNG, J. J. Interferon gamma inhibits lipocyte activation and extracellular matrix mRNA expression during experimental liver injury: implications for

treatment of hepatic fibrosis. **Journal of Investigative Medicine**, Hamilton, v. 42, p. 660-670, 1994.

RODERFELD, M.; WEISKIRCHEN, R.; WAGNER, S.; BERRES, M. L.; HENKEL, C.; GRÖTZINGER, J.; GRESSNER, A. M.; MATERN, S.; ROEB, E. Inhibition of hepatic fibrogenesis by matrix metalloproteinase-9 mutants in mice. **The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v. 20, p. 444-454, 2006.

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.

ROSENTHALL, L.; SHAFFER, E. A.; LISBONA, R. Diagnosis of hepatobiliary disease by Tc-^{99m}-HIDA cholescintigraphy. **Radiology**, Easton, v. 126, p. 467, 1978.

ROY, A. V. Rapid method for determining alkaline phosphatase activity in serum with thymolphthalein monophosphatase. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 16, p. 431-436, 1970.

RYAN, C. J.; THAN, T.; BLUMGART, L. H. Choledochoduodenostomy in the rat with obstructive jaundice. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 23, n. 5, p. 321-331, 1977.

SAKODA, K.; ATIK, M. Influence of common bile duct ligation on hepatic blood flow. **The American Surgeon**, Atlanta, v. 36, p. 731-736, 1970.

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 Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 11, p. 45-48, 1996a.

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.; 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 Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.11, p. 46-48, 1996b.

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. 45-47, 2005.

SANTOS, J. S. **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. 125f. Tese (Livre docência). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT® User's Guide, Version 9.** Cary: SAS Institute, 2002.

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

SCOBIE, B. A.; SUMMERSKILL, W. H. J. Hepatic cirrhosis secondary to obstruction of the biliary system. **American Journal of Digestive Diseases**, New York, v. 10, p. 135-146, 1965.

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.

SIKORA, S. S.; SRIKANTH, G.; AGRAWAL, V.; GUPTA, R. K.; KUMAR, A.; SAXENA, R.; KAPOOR, V. K. Liver histology in benign biliary stricture: Fibrosis to cirrhosis and reversal? **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Melbourne, v. 23, p. 1879–1884, 2007.

SIMS, F. H.; HORN, C. Some observations on Powell's method for the determination of serum bilirubin. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 29, p. 412-417, 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. 466-477, 1990.

SMITH, R. B.; COUPAL, J.; DELAND, F. H.; TRIPLETT, J. W. Pharmacokinetics of hepatobiliary imaging agents in rats: concise communication. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 20, n. 1, p. 45-49, 1978.

STADALNIK, R. C.; MATOLO, N. M.; JANSOLT, A. L.; VERA, D. R. Clinical experience with 99m-Tc-disofenin as a cholescintigraphic agent. **Radiology**, Easton, v. 140, p. 797-800, 1981.

STEFANINI, P.; CARBONI, M.; PATRASSI, N.; BASOLI, A.; BERNARDINIS, G.; NEGRO, P. Roux- en-Y hepaticojejunostomy: a reappraisal of its indications and results. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 182, p. 2113-2219, 1975.

STERR, M. L.; THOMAS, A. N.; ROSSON, C. T.; KETCHUM, S. A. 3RD; HALL, A. D. Chronic biliary obstruction: hemodynamic effects of decompression. **Surgical Forum**, Chicago, v. 19, p. 342-4, 1968.

TAKAHASHI, T.; ISHIKAWA, Y.; KOTOURA, Y.; YAMAMURA, T.; UTSUNOIYA, J. Follow up studies on various reconstrution methods of the biliary tract including our new method (Roux en y duodenojejunal anastomosis). **The Japanese Journal of Surgery**, Tokyo, v. 18, p. 179-186, 1999.

TAMAKUMA, S.; WADA, N.; ISHIYAMA, M.; SUZUKI, H.; KANAYAMA, T; OKINAGA, K.; ISOYAMA, T.; SUGAHARA, K.; ISHIKAWA, K. Relationship between hepatic hemodynamics and biliary pressure in dogs: its significance in clinical shock following biliary descompression. **The Japanese Journal of Surgery, Tokyo**, v. 5, p. 255-268, 1975.

TAYLOR, A. Radionuclide renography: a personal approach. **Seminars in Nuclear Medicine**, Philadelphia, v. 29, n. 2, p. 102-127, 1999.

TELFORD, D. L.; TELFORD, S. W.; SARNA, S. K. Pathophysiology of small intestinal motility. **The Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 73, n. 6, p. 1193-1199, 1993.

TOYOTA, N.; MIYAI, K.; HARDISON, W. G. M. Effect of biliary pressure versus high bile acid flux on the permeability of hepatocellular tight junction. **Laboratory Investigation**, New York, v. 50, p. 536-542, 1984.

TU, B. N.; KELLY, K. A. Surgical treatment of Roux stasis syndrome. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, St Louis, v. 3, p. 613-617, 1999.

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

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. 1282-1288, 1991.

VANTRAPPEN, G.; JANSSENS, J.; HELLEMANS, J.; GHOOS, Y. The interdigestive motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of small intestine. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 59, p. 1158-1166, 1977.

VAN STIEGMANN, G.; GOFF, J. S. An alternative to Roux en Y for treatment of bile reflux gastritis. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v. 166, p. 69-70, 1988.

VOGT, D. P.; HERMANN, R. E. Choledochoduodenostomy, choledochojejunostomy or sphincteroplasty for biliary and pancreatic disease. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 193, p. 161-168, 1981.

WELLS, R. G.; KRUGLOV, E.; DRANOFF, J.A. Autocrine release of TGF-beta by portal fibroblasts regulates cell growth. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 559, p. 107-110, 2004.

WISTOW, B. W.; BW, GAGNE, G. M.; HENDERSON, R. W.; MCAFEE, J. G.; HALL, R. C.; GROSSMAN, Z. D. Experimental and clinical trials of new Tc-99m-labeled hepatobiliary agents. **Radiology**, Easton, v. 128, p. 793-794, 1978.

YEONG, M. L.; NICHOLSON, G. I.; LEE, S. P. Regression of biliary cirrhosis following choledochal cyst drainage. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 82, p. 332-335, 1982.

YOSHIJI, H.; KURIYAMA, S.; YOSHII, J.; IKENAKA, Y.; NOGUCHI, R.; NAKATANI, T.; TSUJINOUE, H.; YANASE, K.; NAMISAKI, T.; IMAZU, H.; FUKUI, H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 attenuates spontaneous liver fibrosis resolution in the transgenic mouse. **Hepatology**, Baltimore, v. 36, p. 850–860, 2002.

ZEISBERG, M.; YANG, C.; MARTINO, M.; DUNCAN, M. B.; RIEDER, F.; TANJORE, H.; KALLURI, R. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 282, p. 23337–23347, 2007.

ZHANG, L.P.; TAKAHARA, T.; YATA, Y.; FURUI, K.; JIN, B.; KAWADA, N.; WATANABE, A. Increased expression of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor during liver fibrogenesis of rats: role of stellate cells. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 31, p. 703–711, 1999.

ZIMMERMANN, H.; SAEGESSER, H.; TENISH, B.; REICHEN, J. Retention of bile induces portal hypertention but not biliary cirrhosis in the rat. **Hepatology**, Baltimore, v. 12, p. 854, 1990.

ZIMMERMANN, H.; REICHEN, J.; ZIMMERMANN, A.; SAGESSER, H.; THENISCH, B.; HOFLIN, F. Reversibility of secondary biliary fibrosis by biliodigestive anastomosis in the rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 103, p. 579-589, 1992.

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. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 26, p. 158-66, 1997.

**APÊNDICE – Tabelas de valores
individuais dos animais estudados**

Tabela 7 – Pesos dos ratos (gramas) no momento da obstrução biliar (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), no momento da derivação (DD, DJ, DJD) e do grupo CO no momento da operação simulada

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	260	224	320	384	278	442	248	370
2	320	235	346	458	304	396	278	330
3	328	236	340	422	274	460	224	318
4	302	234	342	400	280	420	270	346
5	314	224	307	414	272	458	264	300
6	322	238	315	424	278	352	266	384
7	248	220	284	387	275	400	268	346
8	262	248	280	388	300	378	222	342
9			275	368				
Mediana	308	234,5	315	400	278	410	265	344
Média	294,5	232,37	312,11	405	282,62	413,25	255	342
Dp	32,45	9,19	27,64	27,35	12,27	38,78	21,46	26,89

Tabela 8 – Pesos dos ratos (gramas) no momento do sacrifício

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	380	310	640	568	556
2	448	302	634	572	536
3	460	308	560	625	542
4	406	312	645	616	514
5	432	284	590	650	470
6	443	328	618	558	658
7	340	296	638	608	578
8	352	354	532	592	594
9			502		
Mediana	419	309	618	600	549
Média	407,62	311,75	595,44	598,62	556
Dp	45,75	21,31	52,78	31,77	56,17

Tabela 9 – Valores das dosagens de **bilirrubinas totais (BT)**, em U/ml dos ratos, encontrados nos grupos CO, IC, DDpre, DD, DJ pre, DJ, DJDpre, DJD, com os respectivos valores de mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0,5	7,5	7,2	0,4	6,4	0,4	8,1	1
2	0,4	8,7	6,5	0,6	7,4	0,3	9,2	0,5
3	0,4	8,3	4,8	0,4	5,1	0,5	6,6	0,3
4	0,3	8,1	4,3	0,4	6,4	0,5	6,3	0,4
5	0,4	9,3	7,4	0,5	6,9	0,6	6	0,5
6	0,5	8,5	7	0,4	9,2	0,4	5,8	0,4
7	0,4	7,6	5,1	0,3	7,4	0,4	6,3	0,8
8	0,4	12,1	5,7	0,3	6,1	0,5	5,6	0,6
9			7,5	0,4				
Mediana	0,4	8,4	6,5	0,4	6,65	0,45	6,3	0,5
Média	0,41	8,76	6,17	0,41	6,86	0,45	6,74	0,56
Dp	0,06	1,47	1,22	0,09	1,2	0,09	1,26	0,23

Tabela 10: Valores das dosagens de **bilirrubina direta (BD)**, em U/ml, dos ratos, encontrados nos grupos CO, IC, DDpre, DD, DJ pre, DJ, DJDpre, DJD, com os respectivos valores de mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0,1	5,5	4,9	0,1	4,4	0,1	4,9	0,1
2	0,1	6	4	0,4	3,9	0,1	4	0,1
3	0,1	5,5	2,2	0,1	4	0,1	1,4	0,1
4	0,1	5,1	1,6	0,1	4,7	0,2	4,3	0,1
5	0,05	6,1	4,9	0,05	4,9	0,1	4,8	0,2
6	0,15	6,3	4,7	0,1	6,2	0,1	4,2	0,1
7	0,05	5	3,6	0,1	5,1	0,05	4	0,2
8	0,1	8,4	4	0,1	3,9	0,1	3,6	0,2
9			4,6	0,15				
Mediana	0,1	5,75	4	0,1	4,55	0,1	4,1	0,1
Média	0,09	5,99	3,83	0,41	6,86	0,11	3,9	0,14
Dp	0,03	1,08	1,19	0,09	1,2	0,04	1,1	0,05

Tabela 11 - Valores bioquímicos de **bilirrubina indireta (BI)**, em U/ml, dos ratos, encontrados nos grupos CO, IC, DDpre, DD, DJ pre, DJ, DJDpre, DJD, com os respectivos valores de mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0,4	2	2,3	0,3	2	0,3	3,2	0,9
2	0,3	2,7	2,5	0,2	3,5	0,2	5,2	0,4
3	0,3	2,8	2,2	0,1	1,1	0,4	5,2	0,2
4	0,2	3	2,7	0,3	1,7	0,3	2	0,3
5	0,35	3,2	2,5	0,45	2	0,5	1,2	0,3
6	0,35	2,2	2,3	0,3	3	0,3	1,6	0,3
7	0,35	2,6	1,5	0,2	2,3	0,35	2,3	0,6
8	0,3	3,7	1,7	0,2	2,2	0,4	2	0,4
9			2,9	0,25				
Mediana	0,33	2,75	2,5	0,3	2,1	0,33	2,15	0,35
Média	0,32	2,78	2,33	0,28	2,22	0,34	2,84	0,43
Dp	0,06	0,54	0,46	0,08	0,74	0,09	1,57	0,23

Tabela 12 - Valores bioquímicos de **fosfatase alcalina (FA)**, em U/ml, dos ratos, encontrados nos grupos CO, IC, DDpre, DD, DJ pre, DJ, DJDpre, DJD, com os respectivos valores de mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	63	259	480	30	137	40	111	25
2	58	182	302	23	116	16	118	20
3	52	264	340	22	155	62	507	26
4	65	220	166	19	217	21	213	21
5	56	198	420	25	422	22	142	18
6	67	165	196	24	141	23	195	25
7	67	197	368	24	143	19	188	24
8	49	164	198	28	218	23	182	51
9			241	23				
Mediana	60,5	197,5	302	24	149	22,5	185	24,5
Média	59,63	206,13	301,22	24,22	193,63	28,25	207	26,25
Dp	6,93	38,79	109,36	3,23	99,54	15,4	126,79	10,39

Tabela 13 - Valores bioquímicos de **Alanina aminotransferase (ALT)**, em U/ml, dos ratos, encontrados nos grupos CO, IC, DDpre, DD, DJ pre, DJ, DJDpre, DJD, com os respectivos valores de mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	56	70	89	40	56	23	52	159
2	42	89	59	68	89	101	51	255
3	35	128	54	26	51	34	66	42
4	35	86	54	28	35	45	51	83
5	32	80	65	42	26	38	56	130
6	51	333	51	33	86	30	50	94
7	35	96	89	30	72	24	80	24
8	30	138	154	33	66	49	49	25
9			115	180				
Mediana	35	92,5	65	33	61	36	51,5	88,5
Média	39,5	127,5	81,11	53,33	60,13	43	56,88	101,5
Dp	9,4	86,27	34,84	49,15	22,6	25,19	10,83	78,81

Tabela 14 - Valores bioquímicos de **Aspartato aminotransferase (AST)**, em U/ml, dos ratos, encontrados nos grupos CO, IC, DDpre, DD, DJpre, DJ, DJDpre, DJD, com os respectivos valores de mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	205	433	435	138	325	200	525	245
2	122	421	330	251	332	232	450	351
3	117	555	351	82	274	220	698	141
4	109	431	297	98	250	216	566	214
5	99	459	529	79	293	211	604	228
6	162	828	258	173	464	165	520	148
7	110	620	238	119	410	133	959	91
8	65	746	541	143	437	138	391	106
9			475	356				
Mediana	113,5	507	351	138	328,5	205,5	545,5	181
Média	123,63	561,63	383,78	159,89	348,13	189,38	589,13	190,5
Dp	42,4	156,9	114,74	90,7	79,38	38,65	176,03	86,18

Tabela 15 - Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre a **fração de volume (%) dos hepatócitos** (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0,643826	0,483477	0,318473	0,552351	0,460501	0,592579	0,406031	0,606989
2	0,692619	0,44442	0,430615	0,53183	0,459356	0,679989	0,394188	0,642503
3	0,688849	0,481028	0,342062	0,519723	0,476828	0,625823	0,446602	0,550852
4	0,697536	0,554953	0,38482	0,558312	0,471502	0,615094	0,418304	0,590826
5	0,684725	0,552163	0,403429	0,520323	0,514494	0,646812	0,512502	0,587002
6	0,756948	0,514148	0,453886	0,523585	0,468787	0,594565	0,442697	0,633737
7	0,629156	0,527759	0,436266	0,574402	0,38965	0,629041	0,563235	0,682953
8	0,671668	0,45359	0,484852	0,611519	0,451749	0,659906		0,630491
9			0,473804	0,591517				
Mediana	0,69	0,5	0,43	0,55	0,46	0,63	0,44	0,62
Média	0,68	0,5	0,41	0,55	0,46	0,63	0,45	0,62
Dp	0,04	0,04	0,06	0,03	0,03	0,03	0,06	0,04

Tabela 16 - Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre a **fração de volume (%) de fibrose hepática** (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0,025417	0,117643	0,103477	0,045751	0,153866	0,064069	0,164623	0,060764
2	0,019906	0,125497	0,172903	0,078607	0,120009	0,043488	0,113249	0,046525
3	0,010042	0,135208	0,050005	0,043711	0,079627	0,040518	0,114938	0,065972
4	0,014496	0,081917	0,154283	0,040578	0,088836	0,04637	0,156289	0,056173
5	0,010077	0,089865	0,063393	0,0433	0,057935	0,037111	0,093302	0,027473
6	0,008313	0,092881	0,125217	0,057196	0,106906	0,05968	0,157138	0,032455
7	0,019543	0,089287	0,160925	0,058913	0,163672	0,051322	0,072243	0,01931
8	0,018459	0,144316	0,106422	0,044822	0,141565	0,034238		0,04943
9			0,106708	0,032815				
Mediana	0,02	0,11	0,11	0,04	0,11	0,04	0,11	0,05
Média	0,02	0,11	0,12	0,05	0,11	0,05	0,12	0,04
Dp	0,01	0,02	0,04	0,01	0,04	0,01	0,04	0,02

Tabela 17 - Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre a **fração de volume (%) dos ductos biliares** (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0	0,045697	0,035143	7,35E-04	0,11184	0,022621	0,076318	0,006858
2	0	0,088817	0,114819	0,007524	0,058328	0,006399	0,048588	0,006641
3	6,08E-04	0,101446	0,034842	0	0,053976	0,004563	0,068337	0,017821
4	0,001056	0,070934	0,058577	2,11E-04	0,03985	0,010084	0,072855	0,014332
5	0	0,049118	0,029344	5,09E-04	0,014109	0,004845	0,068852	0,002352
6	0,001749	0,049204	0,044787	4,71E-04	0,102039	0,026067	0,061515	0,003766
7	0,001024	0,114979	0,047214	0,00302	0,12751	0,004257	0,056803	0,003906
8	0	0,138173	0,056845	0,003518	0,084232	0,004433		0,001836
9			0,090743	0,005699				
Mediana	0,00	0,08	0,05	0,00	0,07	0,01	0,07	0,01
Média	0,00	0,08	0,06	0,00	0,07	0,01	0,06	0,01
Dp	0,00	0,03	0,03	0,00	0,04	0,01	0,01	0,01

Tabela 18 - Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre a **fração de volume (%) de outros elementos histológicos** (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0,330756	0,353183	0,542637	0,401163	0,273792	0,320731	0,32091	0,32539
2	0,287476	0,341266	0,281663	0,382038	0,362307	0,270124	0,443975	0,304331
3	0,300501	0,282318	0,573091	0,436566	0,389569	0,329096	0,370123	0,365355
4	0,286912	0,292196	0,40232	0,4009	0,399811	0,328452	0,352552	0,33867
5	0,305199	0,308854	0,503833	0,435869	0,413462	0,311233	0,325344	0,383174
6	0,23299	0,343767	0,376111	0,418748	0,322269	0,319688	0,33865	0,330041
7	0,350277	0,267975	0,355594	0,363666	0,319168	0,31538	0,307719	0,29383
8	0,309872	0,26392	0,351881	0,340141	0,322455	0,301424		0,318243
9			0,328745	0,369968				
Mediana	0,30	0,30	0,38	0,40	0,34	0,32	0,37	0,33
Média	0,30	0,31	0,41	0,39	0,35	0,31	0,31	0,33
Dp	0,03	0,04	0,10	0,03	0,05	0,02	0,14	0,03

Tabela 19 - Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre o **número de ductos biliares** (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0	71	42	1	111	39	90	24
2	0	90	130	19	66	18	52	9
3	4	118	43	0	43	18	84	38
4	4	87	53	1	60	36	72	28
5	0	66	63	4	18	12	85	11
6	5	54	54	5	93	39	79	14
7	4	118	60	9	118	21	52	18
8	0	145	60	12	77	16		3
9			86	19				
Mediana	2	88,5	60	5	71,5	19,5	79	16
Média	2,13	93,63	65,67	7,78	73,25	24,88	73,43	18,13
Dp	2,3	31,01	27,37	7,46	33,86	11,19	15,66	11,38

Tabela 20 - Efeito da obstrução biliar (DDpre, DJpre, DJDpre, IC) e das derivações (DD, DJ, DJD), comparados com o grupo CO, sobre a **densidade de ductos biliares** (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	0	84,45956	49,96199	1,189571	132,0424	46,39328	107,0614	28,54971
2	0	107,0614	154,6443	22,60185	78,5117	21,41228	61,85771	10,70614
3	4,758285	140,3694	51,15156	0	51,15156	21,41228	99,92399	45,20371
4	4,758285	103,4927	63,04728	1,189571	71,37428	42,82457	85,64913	33,308
5	0	78,5117	74,94299	4,758285	21,41228	14,27486	101,1136	13,08528
6	5,947856	64,23685	64,23685	5,947856	110,6301	46,39328	93,97613	16,654
7	4,758285	140,3694	71,37428	10,70614	140,3694	24,981	61,85771	21,41228
8	0	172,4878	71,37428	14,27486	91,59699	19,03314		3,568714
9			102,3031	22,60185				
Mediana	2,38	105,28	71,37	5,95	85,05	23,2	93,98	19,03
Média	2,53	111,37	78,12	9,25	87,14	29,59	87,35	21,56
Dp	2,73	36,88	32,56	8,88	40,28	13,31	18,63	13,54

Tabela 21 – **Peso do fígado** dos ratos, em gramas, dos grupos CO, IC, DD, DJ e DJD

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	11,5	16,21	18,76	18,74	16,132
2	14,54	22,73	17,59	16,58	14,122
3	14,49	22,1	21,52	18,41	17,036
4	13,08	17,66	18,32	17,64	14,595
5	13,79	19,09	19,62	17,29	12,93
6	12,15	23,52	16,02	20,47	22,573
7	9,12	15,59	17,42	17,4	16,595
8	9,71	24,93	16,81	15,99	19,84
9			14,73		
Mediana	12,62	20,6	17,59	17,52	16,36
Média	12,3	20,23	17,87	17,82	16,73
Dp	2,07	3,55	2	1,39	3,16

Tabela 22 – **Peso do baço** dos ratos, em gramas, dos grupos CO, IC, DD, DJ e DJD

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	1,04	1,84	1,65	1,6	1,509
2	1,39	1,99	2,04	1,38	1,628
3	1,69	2,04	1,51	3,07	2,333
4	1,18	1,67	1,44	1,51	1,732
5	1,41	1,87	1,24	1,63	1,17
6	1,25	2,02	1,84	2,11	2,522
7	0,94	1,93	1,58	2	1,329
8	0,83	1,74	1,28	1,37	1,79
9			1,48		
Mediana	1,22	1,9	1,51	1,62	1,68
Média	1,22	1,89	1,56	1,83	1,75
Dp	0,28	0,13	0,26	0,57	0,47

Tabela 23 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a **massa relativa do fígado** (g/Kg). Mediana, média e desvio padrão

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	30,26316	52,29032	29,3125	32,99296	29,01439
2	32,45536	75,2649	27,74448	28,98601	26,34701
3	31,5	71,75325	38,42857	29,456	31,43173
4	32,21675	56,60256	28,4031	28,63636	28,39494
5	31,9213	67,69504	33,25424	26,6	27,51064
6	27,42664	71,70732	25,92233	36,68459	34,30547
7	26,82353	52,66892	27,30408	28,61842	28,71107
8	27,58523	70,42373	31,59774	27,01014	33,40067
9			29,34263		
Mediana	30,88	69,06	29,31	28,81	28,86
Média	30,02	64,8	30,15	29,87	29,89
Dp	2,38	9,38	3,81	3,36	2,85

Tabela 24 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a **massa relativa do baço** (g/Kg). Mediana, média e desvio padrão

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	2,736842	5,935484	2,578125	2,816901	2,714029
2	3,102679	6,589404	3,217666	2,412587	3,037313
3	3,673913	6,623377	2,696429	4,912	4,304428
4	2,906404	5,352564	2,232558	2,451299	3,36965
5	3,263889	6,631206	2,101695	2,507692	2,489362
6	2,82167	6,158537	2,977346	3,781362	3,832827
7	2,764706	6,52027	2,476489	3,289474	2,299308
8	2,357955	4,915254	2,406015	2,314189	3,013468
9			2,948207		
Mediana	2,86	6,34	2,58	2,66	3,03
Média	2,95	6,09	2,63	3,06	3,13
Dp	0,4	0,65	0,37	0,9	0,68

Tabela 25 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a **massa estimada dos hepatócitos** (g/Kg). Mediana, média e desvio padrão

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	19,48422	25,28116	16,19078	19,55094	17,6114
2	22,47919	33,44924	14,75536	19,71017	16,92803
3	21,69875	34,51529	19,9722	18,43425	17,31425
4	22,47234	31,41177	15,85778	17,61405	16,77647
5	21,8573	37,37872	17,30294	17,20519	16,14879
6	20,76053	36,86818	13,57253	21,81138	21,74066
7	16,87619	27,79651	15,6835	18,00215	19,60833
8	18,52813	31,94353	19,32263	17,82415	21,05883
9			17,35668		
Mediana	21,23	32,7	16,19	18,22	17,46
Média	20,52	32,33	16,67	18,77	18,4
Dp	2,04	4,2	2,06	1,52	2,12

Tabela 26 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a **massa estimada de fibrose hepática** (g/Kg). Mediana, média e desvio padrão

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	0,769213	6,151605	1,341076	2,113823	1,763038
2	0,64604	9,445532	2,180924	1,260539	1,225789
3	0,316309	9,701628	1,679767	1,193488	2,073599
4	0,467011	4,636713	1,152529	1,327874	1,595023
5	0,321661	6,083421	1,4399	0,987146	0,755787
6	0,227994	6,660227	1,48266	2,18934	1,113396
7	0,524208	4,702669	1,608564	1,468765	0,554413
8	0,509205	10,1633	1,416263	0,924763	1,650982
9			0,962879		
Mediana	0,49	6,41	1,44	1,29	1,41
Média	0,47	7,19	1,47	1,43	1,34
Dp	0,18	2,25	0,34	0,48	0,52

Tabela 27 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a **massa estimada de ductos biliares** (g/Kg). Mediana, média e desvio padrão

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	0	2,38949	0,021541	0,746345	0,198967
2	0	6,684785	0,20876	0,185484	0,174971
3	0,019157	7,279089	0	0,134413	0,560155
4	0,034016	4,015044	0,005999	0,288759	0,406945
5	0	3,325022	0,016914	0,128871	0,064692
6	0,047979	3,528305	0,012222	0,956244	0,129204
7	0,02747	6,055806	0,082447	0,121825	0,112159
8	0	9,730685	0,111173	0,119725	0,061325
9			0,167232		
Mediana	0,01	5,04	0,02	0,16	0,15
Média	0,02	5,38	0,07	0,34	0,21
Dp	0,02	2,48	0,08	0,33	0,18

Tabela 28 - Efeito da obstrução biliar (IC) e das derivações (DD, DJ e DJD), comparados ao controle (CO) sobre a **massa estimada de outros elementos histológicos** (g/Kg). Mediana, média e desvio padrão

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	10,00972	18,46806	11,7591	10,58185	9,440982
2	9,330128	25,68535	10,59944	7,829822	8,018223
3	9,465783	20,25724	16,7766	9,693846	11,48373
4	9,24338	16,53904	11,3868	9,405679	9,616501
5	9,742337	20,90787	14,49448	8,278795	10,54137
6	6,39013	24,65061	10,85491	11,72762	11,32221
7	9,395658	14,11394	9,929559	9,025677	8,436173
8	8,547895	18,58621	10,74767	8,141497	10,62953
9			10,85584		
Mediana	9,36	19,42	10,86	9,22	10,08
Média	9,02	19,9	11,93	9,34	9,94
Dp	1,14	3,89	2,23	1,33	1,28

Tabela 29 - Valores do **número de células estreladas**, nos grupos com obstrução biliar (IC, DDpre, DJpre, DJDpre), nos grupos derivados (DD, DJ e DJD) e no grupo controle (CO), mediana, média e desvio-padrão

Ratos	CO	IC	DDpre	DD	DJpre	DJ	DJDpre	DJD
1	10	122	128	67	113	60	146	41
2	11	100	180	58	197	48	138	34
3	4	96	133	35	103	33	122	35
4	35	77	139	30	187	40	240	52
5	26	113	134	35	128	60	158	26
6	7	127	159	37	138	60	93	30
7	10	75	97	28	141	47	64	31
8	18	170	220	47	185	63	221	55
9			180	39				
Mediana	10,5	106,5	139	37	139,5	54	142	34,5
Média	15,13	110	152,22	41,78	149	51,38	147,75	38
Dp	10,56	30,83	36,56	13,12	36,02	11,06	59,47	10,53

Tabela 30 - Valores de tempo de **aparecimento do radiofármaco no intestino delgado (T intestino)**, expressos em segundos, obtidos após injeção de DISIDA-^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	90	>360	135	135	165
2	90	>360	165	120	135
3	90	>360	150	135	135
4	105	>360	165	150	165
5	90	>360	135	135	165
6	90	>360	120	135	204
7	105	>360	135	120	135
8	90	>360	165	120	105
9			135		
Mediana	90	360	135	135	150
Média	93,75	360	145	131,25	151,13
Dp	6,94	0	16,77	10,61	29,95

Tabela 31 - Valores de tempo de **atividade hepática máxima (T max)**, expressos em minutos, obtidos após injeção de DISIDA-^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	1,5	15,25	2	2,5	2
2	1,5	10,75	2,75	2	2,25
3	1,5	10,65	2	2	2,25
4	1,5	6,25	2	2,25	2,5
5	1,5	4,4	1,5	2,5	2,5
6	1,5	3,75	2	2,5	2
7	1,5	13	2	1,75	2,25
8	1,5	4	2	1,5	1,75
9			2		
Mediana	1,5	8,45	2	2,13	2,25
Média	1,5	8,51	2,03	2,13	2,19
Dp	0	4,48	0,32	0,38	0,26

Tabela 32 - Valores de tempo para **eliminação hepática de metade do radiotraçador (T ½)**, expressos em minutos, obtidos após injeção de DISIDA-^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	4,25	313,83	5,25	9,25	6
2	4,5	161,26	7	6,5	6,5
3	4	98,55	7,25	5,25	7
4	5	77,21	6,5	5,75	6,25
5	4,75	67,46	5,75	6,5	9
6	4	86,14	4,75	8,5	8
7	3,75	166,38	5,25	6	7
8	4,25	48,55	7	5,5	5,75
9			5,5		
Mediana	4,25	92,35	5,25	6,25	6,75
Média	4,31	127,42	6,03	6,66	6,94
Dp	0,42	86,43	0,92	1,45	1,09

Tabela 33 - Valores da **razão 20 minutos/máximo (R20/Max)**, obtidos após injeção de DISIDA-^{99m}Tc por via endovenosa, nos diferentes grupos (mediana, média e desvio padrão)

Ratos	CO	IC	DD	DJ	DJD
1	0,11	0,98	0,15	0,26	0,18
2	0,13	0,95	0,2	0,15	0,18
3	0,11	0,94	0,18	0,12	0,22
4	0,11	0,89	0,17	0,11	0,18
5	0,14	0,84	0,16	0,18	0,3
6	0,12	0,87	0,15	0,23	0,22
7	0,14	0,97	0,14	0,14	0,24
8	0,13	0,8	0,16	0,11	0,16
9			0,18		
Mediana	0,13	0,92	0,16	0,15	0,2
Média	0,12	0,91	0,17	0,16	0,21
Dp	0,01	0,07	0,02	0,06	0,05