

ARTIGO ORIGINAL

Estudo Histológico do Fígado de Ratos Após Ligadura do Ducto Hepático Direito¹

Abel Botelho Quaresma², Ricardo Tramonte³, Débora Cadore de Farias⁴,
Fabrícia Slonski Joly⁵, Armando José d'Acampora⁶

Resumo

Introdução: habitualmente a colestase ocorre por lesão iatrogênica. Cerca de 80% das lesões das vias biliares são diagnosticadas durante e após uma colecistectomia. Em aproximadamente 15% das vezes, as lesões são reconhecidas e tratadas durante a cirurgia. As 85% restantes tornam-se manifestas por uma fístula biliar ou icterícia.

Objetivo: observar as alterações histológicas que possam ocorrer no fígado de ratos Wistar, após ligadura do ducto hepático direito.

Métodos: neste estudo foram utilizados ratos (n=46) da linhagem Wistar. O grupo de animais (n=36) foi dividido em 6 grupos (n=6). Foi realizada cirurgia para a ligadura do ducto hepático direito e eutanásia em 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias. Dado o prazo de espera de cada grupo, os animais foram submetidos a procedimento anestésico e reabertura da cavidade, sendo realizada a retirada do fígado e eutanásia por exanguinação com o animal anestesiado. O fígado foi fixado em solução de formol a 10% por um período de 24 horas e encaminhado ao laboratório de histologia. O lobo esquerdo serviu de controle para o direito.

Resultados: não foram encontrados resultados estatisticamente significantes quanto à existência de alterações histológicas entre os diversos grupos.

Conclusão: ao final do estudo não se conseguiu identificar histologicamente alterações que expressassem diferenças significativas entre os animais do grupo com o ducto hepático direito e o lado esquerdo do fígado não ligado.

Descritores: 1. Ducto hepático;
2. Fígado;
3. Histologia.

Abstract

Introduction: Usually the flow obstructions of the biliary secretion happen by iatrogenic lesion. About 80% of biliary lesions are diagnosed during and after a cholecystectomy. In approximately 15% the lesions are recognized and treated during surgery. The 85% left, come up cholestasis. In this case bilirubins, alkaline phosphatase and gamma-glutamyl-transferase reach their highest levels, contrasting with a little transaminase elevation.

Objective: to observe the histological alterations in the liver that can happen in Wistar rat, after the ligation of right hepatic duct.

Methods: in this study were used rats (n=36) of Wistar pedigree. The animal groups were distributed in 6 experimented groups (n=6). It was held a ligation surgery of the right hepatic duct and euthanasia in 7, 14, 21, 28, 60 and 90 days. Given the expected time of each group, the animals were submitted to anesthesia procedure and cavity re-opening, being held. It was proceeded the liver resection, being the rat slaughtered, by bloodless with the anesthetized animal. The liver was put in formal solution to 10% for a period of 24 hours and taken to the histology.

1. Trabalho desenvolvido no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).
2. Professor de Farmacologia e Fisiopatologia da Universidade do Oeste Catarinense, Mestre em Ciências Médicas pela UFSC.
3. Professor Adjunto do Departamento de Morfologia da UFSC, Doutor em Histologia pela USP.
4. Aluna do Curso de Graduação em Medicina da UFSC.
5. Residente de Cirurgia Geral do HU/UFSC.
6. Professor Adjunto do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC, Doutor em Medicina pela UNIFESP - EPM.

Conclusion: at the end of the study, it was not possible to identify histologically alterations that express significant differences between livers of the animals from the right linked hepatic duct and the animals of the control group.

Keywords: 1. *Hepatic duct;*
2. *Liver;*
3. *Mistologia.*

Introdução

A ausência de escoamento da secreção biliar (colestase) é uma situação grave e geralmente letal.^{1,2,3,4,5,6} Habitualmente a obstrução do livre fluxo da secreção biliar ocorre por lesão iatrogênica.⁷ A maior parte das lesões do sistema ductal biliar extra-hepático ocorre, quase sempre, por atuação cirúrgica sobre a vesícula biliar ou o colédoco.

Cerca de 80% das lesões da via biliar extra-hepática são diagnosticadas durante e após uma colecistectomia. Em aproximadamente 15% das vezes, as lesões são reconhecidas e tratadas durante a cirurgia. Os 85% restantes tornam-se manifestos, seja através de uma icterícia obstrutiva, seja por uma profusa e persistente eliminação de bile através do dreno, caracterizando uma fístula biliar.⁷

Em trabalho realizado na Clínica Lahey e citado por Schwartz, 501 pacientes com estenose da via biliar, subsequente a tratamento cirúrgico, foram investigados e houve a constatação de que mais de 70% dos pacientes haviam sido submetidos à colecistectomia, nos quais a operação ocorrera sem qualquer intercorrência per-operatória perceptível. Nos 30% restantes, alguns fatores foram implicados como: operação sobre vesículas contraídas (escleroatróficas), íntima associação entre o infundíbulo vesicular e o ducto hepático comum, hemorragia maciça durante a cirurgia com tentativa de ligadura às cegas, durante a qual o ducto foi ocluído ou traumatizado, e ainda quando da ligadura do ducto cístico sob tensão, promoveu a formação de angulação no ducto hepático, e a conseqüente ligadura em conjunto (cístico e hepático comum).⁷

Em muitos casos, são percebidas alterações ocorridas após diferentes episódios de colestase por obstrução do ducto biliar principal, com a verificação ou não de deterioração funcional, cujas alterações são percebidas no volume proporcional de hepatócitos e no epitélio do ducto biliar.^{8,9,10}

Marinelli, Sanchez, Izquierdo, Burgos, Arce, Del Castillo-Olivares (1987) em estudo com 80 ratos wistar

demonstraram que após 30 dias de ligadura do ducto hepático comum ocorreram alterações significativas nos lóbulos hepáticos à histologia.¹¹

Medeiros, Freitas e Andrade (1988) em estudo histológico com ratos jovens e adultos submetidos à ligadura do ducto hepático comum confirmaram as alterações encontradas por Marinelli et col e sugeriram que a idade pode estar envolvida na patogênese das colestases.¹²

Decidimos, então, pela simulação em animal de experimentação, de uma situação de obstrução mecânica semelhante àquela que ocorre no homem, procedendo à ligadura de apenas um dos ductos hepáticos do rato, no caso o direito, estudando histologicamente o fígado, na procura de repercussões que pudessem ser analisadas com o objetivo observar as alterações histológicas que possam ocorrer no fígado de ratos Wistar, após ligadura do ducto hepático direito.

Métodos

Foram utilizados ratos albinos machos (n=36) da linhagem Wistar de mesma idade (180 dias), com peso variando entre 250 e 350 gramas, mantidos em gaiolas de plástico individuais até o tempo determinado para os procedimentos cirúrgicos e a eutanásia. Os animais foram mantidos sob luz natural, respeitada a relação noite/dia, em temperatura, condições de ruído e umidade ambientais, recebendo alimentação própria para a espécie, com acesso livre à dieta e água durante todo o experimento. Foram identificados através de numeração, por meio de sorteio simples, e submetidos à aferição do peso antes da realização do primeiro procedimento cirúrgico.

O grupo de animais (n=36) foi dividido em 6 grupos. Foi realizada cirurgia para a ligadura do ducto hepático direito e eutanásia em 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias. Dado o prazo de espera de cada grupo, os animais foram submetidos a procedimento anestésico e reabertura da cavidade, sendo realizada a retirada do fígado e eutanásia, por exanguinação com o animal anestesiado. O fígado foi fixado em solução de formol a 10 % por um período de 24 horas e encaminhado ao laboratório de histologia. O lobo esquerdo serviu de controle para o direito.

Para a realização do ato operatório, os animais foram submetidos à anestesia geral, com indução por inalação de éter etílico, e manutenção com solução de Cloridrato de Cetamina e Cloridrato de dihidrotiazina, nas doses de 100mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente, administradas por via intramuscular na face interna da coxa esquerda.^{13,14,15}

Após atingir plano anestésico, os animais foram levados a uma balança de precisão, para pesagem e depois foram posicionados em decúbito dorsal horizontal sobre uma prancha de madeira e fixados com fitas adesivas nas quatro patas. A seguir, foi realizada depilação da parede anterior do abdome e anti-sepsia com álcool iodado a 2%. Foi colocado um pano fenestrado que delimitou o campo operatório.

Com bisturi foi executada incisão mediana de aproximadamente 4cm e completada a laparotomia com tesoura de Metzemaum. Em seguida, foi posicionado um afastador auto-estático de Adson para exposição da cavidade peritoneal. Realizou-se inventário da cavidade observando-se as vísceras abdominais.

A dissecação do ducto hepático direito foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópico com oculares do tipo grande angular de 12,5X de aumento. A seguir, o intestino delgado e o cólon foram eviscerados e envolvidos com gaze umedecida em solução salina.

A exposição da via biliar foi conseguida com o auxílio de pequenas hastes flexíveis com ponta de algodão (Cotonetes®) umedecidos em solução salina.

A via biliar foi identificada entre o tecido pancreático e o hilo hepático, sendo o ducto hepático direito identificado e ligado duplamente com fio de polipropileno 7-0, a 1cm da sua exposição fora do parênquima hepático e seccionado entre as ligaduras.

As vísceras do animal foram devolvidas a cavidade, sendo realizada síntese por planos com sutura contínua.

Dado o prazo de espera de cada grupo, os animais foram submetidos a procedimento anestésico, reabertura da cavidade por toraco-freno-laparotomia para retirada do fígado.

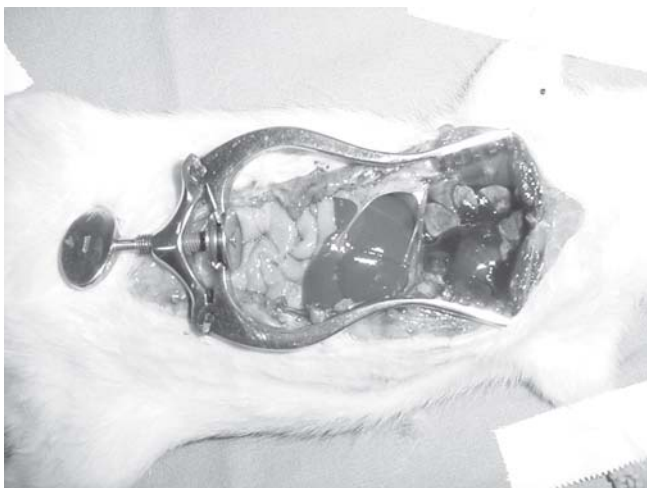


Figura 1 – Foto do animal submetido a toraco-freno-laparotomia.

O fígado foi retirado pela secção com tesoura dos ligamentos, nos ângulos esplênico e hepático. Outras aderências e/ou bridas que houvessem foram retiradas em bloco, juntamente com os ductos hepáticos e músculo diafragma.



Figura 2 – Foto da retirada do fígado.

Posteriormente foi realizada eutanásia por exanguinação com o animal anestesiado.

O fígado, após a retirada, teve seus lobos reconhecidos na sua divisão em direito, esquerdo, caudado e mediano. Os lobos esquerdo e direito foram separados e seccionados transversalmente em seu maior diâmetro com o auxílio de uma lâmina de aço, permanecendo na solução de formol a 10% (fixador) por um período de 24 horas, sendo o líquido substituído a cada 12 horas em volume 10X superior ao volume da peça obtida.

Após a fixação, as peças foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de fixador e imersas em solução de álcool a 70%. Estas peças foram codificadas numericamente e enviadas ao laboratório de histologia para obtenção de cortes semi-seriados, com 7 a 10 mm de espessura cada um, submetidas à técnica histológica de rotina para inclusão em parafina e coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE). Foram obtidos 10 cortes histológicos de cada um dos lobos hepáticos, com espessura de 7 a 10 µm de cada uma das peças retiradas, com espaçamento de 200 µm entre cada um dos cortes, sendo assim verificada uma extensão de 2 cm do lobo hepático analisado. As lâminas foram examinadas por 2 observadores treinados, que desconheciam qual a codificação das peças, o que impedia a identificação do grupo de animais ao qual pertencia o

corte analisado. Nesta análise foram observados os seguintes critérios:

- a) Presença ou ausência de alterações morfológicas nos lóbulos hepáticos.
- b) Tamanho médio de 2 lóbulos hepáticos em cada um dos cortes da lâmina, medidos com auxílio de uma régua ocular previamente calibrada, segundo o método preconizado por Mandarim de Lacerda para medidas lineares.^{16,17,18}
- c) Presença ou ausência de tecido de granulação e/ou aumento numérico de polimorfonucleares e/ou mononucleares nos cortes examinados.
- d) Alterações histológicas do tecido conjuntivo presente no espaço-porta e na área centro lobular de cada lóbulo analisado.

Foram analisados os lobos direito e esquerdo, sendo este servindo como controle do direito, no mesmo fígado.

A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico convencional, utilizando-se objetivas de 10X e 40X.

Nesta análise foram observados os seguintes parâmetros:

1- com a objetiva de 10X foram verificados:

- a) Presença ou ausência de fibrose no lóbulo hepático, infiltrado linfocitário em qualquer área do lóbulo cortado e alterações histológicas em torno dos ductos bilíferos e nos espaços porta.
- b) Tamanho em micrômetros de pelo menos dois lóbulos hepáticos cortados transversalmente dentro de cada corte histológico, com auxílio de uma régua ocular previamente calibrada, seguindo o método estipulado por Mandarim de Lacerda¹⁸ para medidas lineares.

2- Com a objetiva de 40X foram realizados os seguintes procedimentos:

Focalizado um lóbulo hepático, seccionado transversalmente dentro do corte histológico foi posicionada uma grade ocular, com 100 divisões previamente calibradas, conforme o método empregado por Tramonte, Carvalho, Ortellado, Serafim, Dambrós, e d'Acampora¹⁹, no limite do tecido conjuntivo existente em um dos espaços-porta do referido lóbulo, delimitando uma área de contagem em direção a veia central do lóbulo escolhido. Sendo em seguida realizada uma contagem do número de polimorfonucleares, mononucleares ou células macrofágicas existentes dentro da área delimitada pela grade ocular.

Após a análise histológica foram revelados os códigos empregados para cada uma das lâminas e construídas tabelas com base no protocolo de análise histológica.

Após estes procedimentos, foram obtidas fotomicrografias representativas de cada alteração encontrada,

com auxílio de fotomicroscópio Nikon- Labophot2- que permitiram a documentação das alterações histológicas observadas nos grupos de animais analisados.

Os resultados assim obtidos foram submetidos a análises estatísticas para verificar quantitativamente as possíveis diferenças morfológicas observadas entre os grupos de animais analisados no presente experimento.

Todos os resultados histológicos foram tabulados no *software* Excel e analisados estatisticamente utilizando o programa SPSS 8.0.^{20,21} As diferenças foram testadas em um nível de significância de 95% ($p < 0.05$).

Resultados

Tabela I - Achados macroscópicos na superfície hepática - Presença de necrose, alteração de cor e nódulos na superfície hepática.

Subgrupo	Necrose	Alteração da Cor	Nódulos	n° de Animais
A1	0,00	0,00	0,00	6
A2	0,00	0,00	0,00	6
A3	0,00	0,00	0,00	6
A4	0,00	0,00	(1) 16,66%	6
A5	0,00	0,00	0,00	6
A6	0,00	0,00	0,00	6
TOTAL	0,00	0,00 %	2,27%	36

Tabela II - Achados macroscópicos do hilo hepático – Presença de aderências e fibrose.

Subgrupo	Aderências	Fibrose	n° de Animais
A1	(6) 100,00 %	(0) 0,00%	6
A2	(6) 100,00 %	(0) 0,00%	6
A3	(6) 100,00 %	(0) 0,00%	6
A4	(6) 100,00 %	(0) 0,00%	6
A5	(6) 100,00 %	(3) 50,00%	6
A6	(6) 100,00 %	(6) 100,00%	6
TOTAL	(36) 100,00 %	(9) 25,00%	36

Tabela III - Achados histológicos do fígado de rato – Médias dos tamanhos dos lóbulos hepáticos em cada subgrupo.

Subgrupo	Lobo Direito (em micrômetros)	Lobo Esquerdo (em micrômetros)	n° de Animais
A1	53,08	50,58	6
A2	45,50	45,75	6
A3	47,75	47,91	6
A4	49,16	50,83	6
A5	50,33	53,33	6
A6	47,16	48,16	6

Tabela IV – Número e *causa mortis* dos animais do grupo controle.

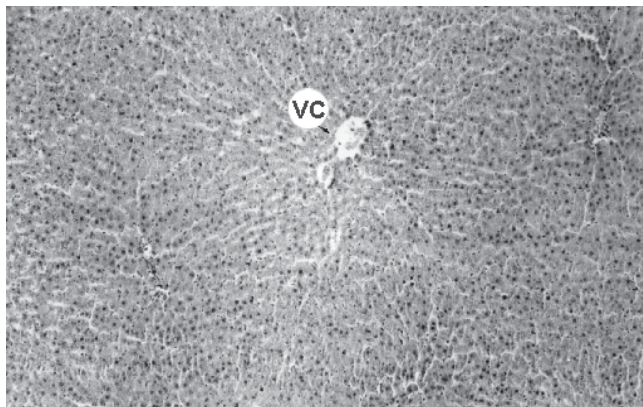
Causa Provável	nº de Animais	Dia de Pós-operatório
Hipotermia	2	IMEDIATO
Choque hipovolêmico	1	IMEDIATO
Coleperitônio	1	2 PO

Tabela V – Sinais observados nos animais do grupo experimento.

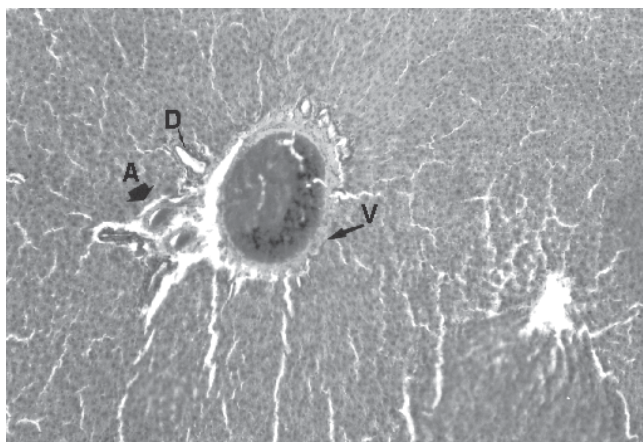
Subgrupo	Icterícia	Colúria	Acolia	Total
A1	0,00	0,00	0,00	6
A2	0,00	0,00	0,00	6
A4	0,00	0,00	0,00	6
A5	0,00	0,00 / <td>0,00</td> <td>6</td>	0,00	6
A6	0,00	0,00	0,00	6

A seqüência de fotomicrografias abaixo indica que não foi possível encontrar nenhuma alteração histológica digna de observação entre os diversos grupos de animais analisados.

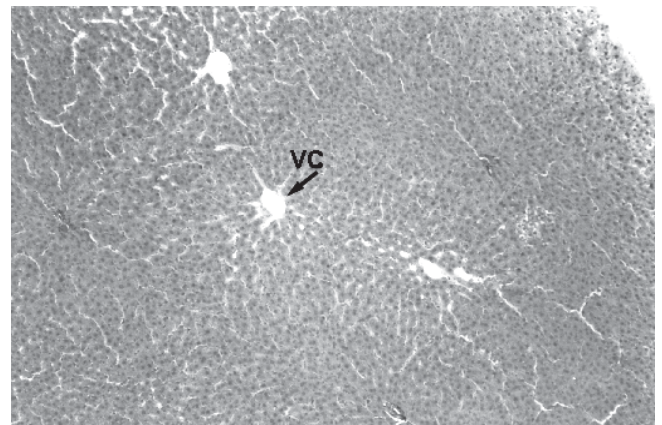
A primeira seqüência mostra 4 grupos em coloração de HE e com objetiva de 10X.



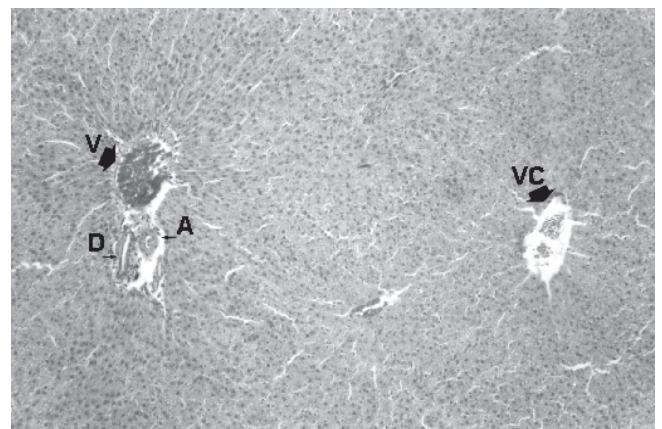
A



B



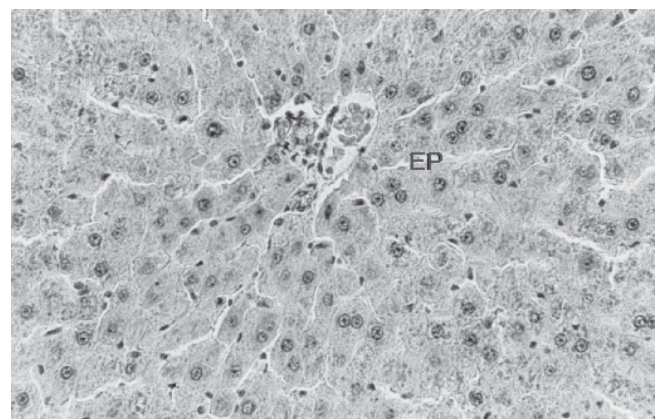
C



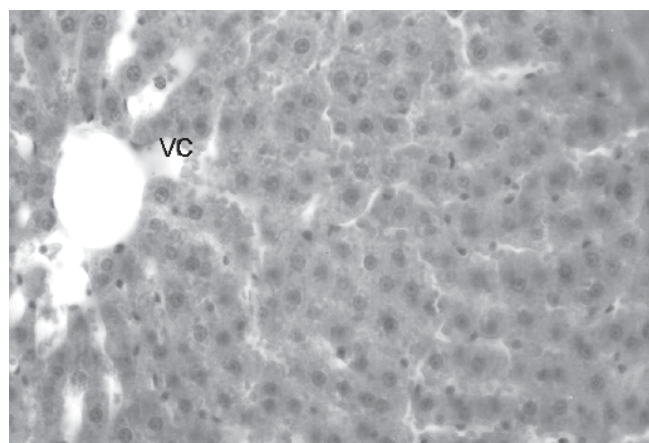
D

Figura 10 - Fotomicrografias do grupo (A) A2 (14 dias), (B) A3 (21 dias), (C) A4 (28 dias) e (D) A5 (60 dias) do lobo direito (procedimento). (10X HE). Observa-se VC – veia centro lobular, EP – espaço porta, (V) Veia do Espaço Porta, (D) Ducto Biliar e (A) Artéria.

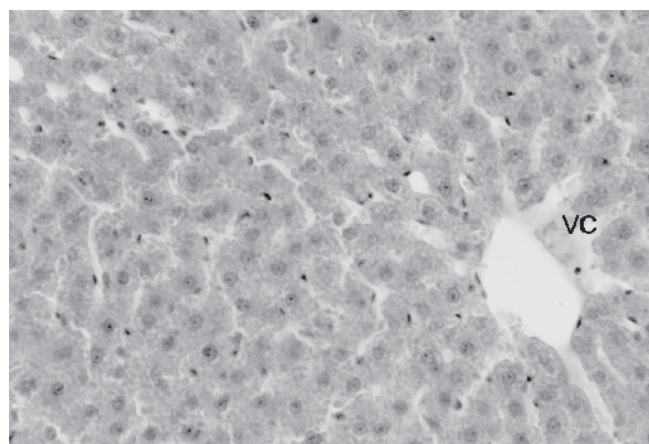
A segunda seqüência mostra 4 grupos em coloração de HE e com objetiva de 40X.



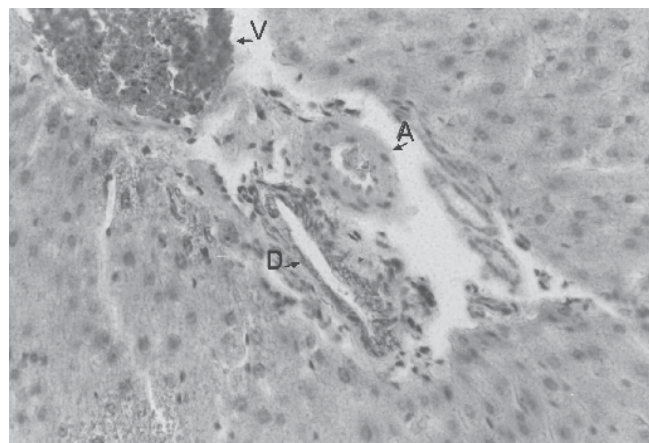
A



B



C



D

Figura 11 - Fotomicrografias do grupo (A) A2 (14 dias), (B) A3 (21 dias), (C) A4 (28 dias) e (D) A5 (60 dias) do lobo direito (procedimento). Observa-se veia centro lobular (VC) espaço porta (EP), artéria (A) e ducto (D). Nota-se a presença de hepatócitos com um e dois núcleos. (40X HE).

Discussão

A opção pelo animal de experimentação deve-se a vários fatores: o rato é definido como um animal com características padronizadas, suas pequenas dimensões permitem o acondicionamento adequado de vários animais em pequenos espaços, apresenta menor custo, relativa facilidade de manuseio, grande resistência à infecção, ciclo de vida curto e reprodução em alta escala.^{13,22,23,24,25}

O fígado do rato é um órgão de cor marrom-escuro, localizado abaixo do diafragma, predominantemente no lado direito. Sua divisão compreende quatro lobos: um lobo mediano de maior tamanho, um lobo lateral direito, um lobo lateral esquerdo e um pequeno lobo caudado.²⁶

O ducto hepático comum é formado pela junção dos ductos hepáticos de cada lobo. Cursa na direção do duodeno onde se abre na papila, aproximadamente a 25 mm em sentido caudal ao piloro. Neste nível é circundado por uma estrutura muscular similar ao esfíncter de Oddi dos humanos. Seu diâmetro é uniforme, com cerca de 0,5 a 1 mm e não apresenta ducto cístico nem vesícula biliar.^{15,23,24,25,27}

Durante o experimento, 4 óbitos ocorreram, 2 deles imediatamente após o ato anestésico, provavelmente em decorrência da hipotermia. Os outros 2 óbitos ocorreram 1 por choque hipovolêmico e outro por coleperitônio.

Waynforth e Flecknell²⁴ referem que a hipotermia é a maior causa de óbitos durante a anestesia em ratos. Todos os anestésicos (inclusive a associação Xylasina + Ketamina¹⁴) alteram o centro termo-regulador, diminuindo a temperatura corporal. O fato é percebido com maior frequência e mais pronunciado em animais de pequeno porte, devido a sua grande área de superfície de troca em relação a uma pequena massa corpórea.¹⁵

Para evitar a hipotermia, utilizou-se uma lâmpada de 40w para aquecer os animais no pós-operatório imediato, até a recuperação total do efeito anestésico.

Outra preocupação foi revelada quanto à dissecação do ducto hepático direito, em íntimo contato com a veia porta, cuja lesão pode ser causada por qualquer deslize, por menor que seja. Esta complicação, percebida em 1 animal, acarretou o óbito, devido à hemorragia incontrolável por ruptura da veia de forma iatrogênica, onde a causa foi choque hipovolêmico com hemoperitônio logo nas primeiras horas.

O próprio ducto hepático direito, também deve ser manuseado com extrema cautela. Por ser uma estrutura sensível, de tamanho reduzido, deve-se, como em qualquer outro tecido, evitar manobra que possa se revelar

brusca. Este fato foi também observado em 1 animal e provocou a sua morte por peritonite química devido a coleperitônio por rompimento do ducto hepático, no segundo dia de pós-operatório.

Todos os animais que evoluíram a óbito foram submetidos à necropsia e substituídos.

Embora já houvesse expectativa sobre a possibilidade de icterícia durante o decorrer do tempo de estudo, a alteração da coloração da esclerótica dos animais por depósito de pigmento biliar, (icterícia) não foi observada em nenhum animal, assim como não ocorreu colúria ou acolia fecal durante todo o experimento.

Quanto às alterações macroscópicas, no sacrifício dos animais notamos que no hilo hepático de todos os animais havia aderências, decorrentes da manipulação para realização da ligadura. Fibrose no hilo foi evidenciada em 50% dos animais do grupo A5 (prazo de espera de 60 dias) e 100% nos animais do grupo A6 (prazo de espera de 90 dias), demonstrando uma reação regenerativa do local após provável processo inflamatório pós-manipulação.

A colestase é caracterizada pela retenção do pigmento biliar, em ordem decrescente, no hepatócito, no canalículo e nas células de Kupffer.²⁸ No parênquima hepático, as alterações histológicas produzidas pela colestase são primeiramente na área do espaço porta, podendo chegar, com a evolução do processo, até a periferia do lóbulo. Durante este experimento, não foi observada nenhuma alteração histológica em nível de microscopia óptica que indicasse a presença de retenção de pigmento biliar no interior dos lóbulos hepáticos, assim como não foi observado aumento de tamanho do parênquima hepático nos cortes histológicos do lóbulo direito. Os hepatócitos localizados em torno da veia central dos lóbulos hepáticos examinados não apresentaram alterações morfológicas durante o exame ao microscópio óptico, bem como não foi possível observar aumento de tamanho dos sinusóides desta região.

Histologicamente a presença de fibrose hepática em apenas um animal do grupo A4 (prazo de espera de 28 dias), apresentou-se como uma massa esbranquiçada pericapsular.

Os trabalhos encontrados utilizaram a ligadura do ducto hepático comum. Nestes, autores como Marinelli et col¹¹ realizaram estudos com 80 ratos wistar e demonstraram que após 30 dias de ligadura do ducto hepático comum ocorreu à proliferação canalicular e fibrose portal ao redor dos lóbulos hepáticos, dados estes confirmados por Medeiros, Freitas e Andrade¹² em 1988.

A obstrução dos ductos biliares acarreta, a longo prazo, alterações fibro-nodulares que podem ser intra ou extra-hepáticas, esta última também chamada de colestase mecânica. A resposta à obstrução biliar crônica é conhecida como cirrose biliar secundária. Outras causas de cirrose biliar secundária incluem obstrução mecânica prolongada, colangite esclerosante, fibrose cística e cistos biliares congênitos.²⁸

Independente do agente causador de lesão hepática, o fígado, aparentemente, reagirá de cinco maneiras:

1. necrose.
2. degeneração.
3. inflamação.
4. regeneração.
5. fibrose.

A necrose pode ocorrer praticamente em qualquer lesão cuja alteração seja significativa, e ocorre às custas dos hepatócitos. Porém, antes da sua caracterização, os hepatócitos podem tornar-se tumefeitos e edematosos, com citoplasma irregularmente compacto, e grandes espaços claros. O material biliar retido pode estar com aspecto difuso, espumoso e tumefeito. Estas características relacionam-se à degeneração.

A inflamação define-se pelo afluxo de células inflamatórias agudas ou crônicas aos espaços porta ou no parênquima.²⁷

Pode ocorrer regeneração, indicada pelo espessamento dos cordões dos hepatócitos (pela proliferação destes) e certa desorganização da estrutura parenquimatosa.

A fibrose ocorre pela deposição de colágeno, inicialmente ao redor dos espaços porta ou da veia centrolobular, ou pode depositar-se no espaço de Disse. Se a fibrose persistir, o fígado será dividido em nódulos de hepatócitos em regeneração circundados por tecido cicatricial (cirrose). Em nossas observações não verificamos aumento significativo de fibrose em nenhum dos grupos de animais ao nível de microscopia óptica.

A obstrução extra-hepática provoca no fígado alterações profundas. No estágio terminal, a superfície hepática apresenta pigmentação verde-amarelada, acompanhada por tecidos e líquidos corporais ictéricos. Na superfície de corte, o fígado encontra-se endurecido e levemente granular.

Na microscopia, os ductos biliares ficam distendidos e, com frequência, contêm bile espessada. Os espaços porta estão interconectados por septos fibrosos inflamados e parecem edemaciados; existe uma estreita zona de edema e proliferação ductal na junção entre o parênquima e os septos. As características colestáticas podem ser intensas, com acúmulo citoplasmático e ca-

nalicular de bile, extensa degeneração dos hepatócitos e a formação de lagos biliares. Entretanto, uma vez formados os nódulos de regeneração da cirrose, a estase biliar pode tornar-se menos evidente.²⁹

A observação dos ductos bilíferos presentes nos espaço-porta dos lobos hepáticos direitos, não indicou um aumento de volume significativo do seu calibre, bem como não foi possível verificar a presença de edema acentuado neste local em todos os grupos de animais observados.

A quantidade de polimorfonucleares e mononucleares verificadas nas áreas de análise estipuladas pelo método empregado, não indicou diferença significativa entre os lóbulos direito e esquerdo. Tal resultado indica fortemente que nos diversos grupos de animais analisados as modificações fisiológicas e/ou imunitárias das células presentes nos lóbulos hepáticos induzidas pela obstrução biliar do lóbulo direito destes animais, não foram suficientes para provocar uma alteração morfológica passível de ser observada ao nível de microscopia óptica.

Os resultados obtidos pelas análises microscópicas indicam que não houve necrose, inflamação ou fibrose de nenhuma área examinada através da microscopia óptica nos 6 grupos de animais do experimento. A estrutura morfológica permaneceu inalterada em todos os grupos. Esse fato é totalmente discordante dos achados após ligadura do ducto biliar comum, onde ocorre um intenso processo de alteração, tanto nos ductos biliares intra-hepáticos quanto espaços porta e hepatócitos. Apesar disso, devemos salientar que os resultados histológicos observados neste trabalho indicam que a ligadura de apenas 1 dos ramos lobulares (direito) que participam da formação do ducto hepático comum não causam alterações passíveis de serem observadas em microscopia óptica.

Essa total ausência de alteração exclui também a possibilidade de ocorrência de um processo degenerativo ou inflamatório prévio com posterior regeneração ou fibrose, pois não há sinais de espessamento dos cordões de hepatócitos nem deposição colágena.

Nos trabalhos pesquisados que realizaram estudo com humanos Abrantes³⁰ em sete pacientes tratados por técnica não convencional de lesões da junção dos ductos hepáticos, com seguimento de 11 anos e cinco meses em média, não se notou mudança na função hepática, avaliada por parâmetros bioquímicos, após a ligadura do ducto hepático direito. A técnica consistia em ligadura do ducto hepático direito e anastomose do ducto hepático esquerdo com o segmento retropancreático do colédoco ou com alça jejunal excluída.

Drummont et al.³¹ em 1995 relataram que após cinco anos de seguimento de um paciente tratado por lesão do ducto hepático esquerdo por arma de fogo, não haver nenhuma mudança na função hepática.

Estes dados embora tenham sido observados em humanos, são bastante semelhantes aos dados morfológicos observados neste experimento com ratos.

Sugere-se, portanto, uma comunicação, entre os lobos do fígado do rato Wistar, compensando a obstrução de um dos ductos. Faz-se necessário um estudo desta comunicação para viabilizar esta hipótese. No nosso entender a ausência de alterações histológicas e bioquímicas se deve a anastomoses entre os diversos canalículos extra-hepáticos, ao nível do hilo que fazem o escoamento da bile represada pela ligadura do ducto em questão, fato este que precisa ser comprovado em outro estudo.

Conclusão

Neste trabalho, não se conseguiram identificar histologicamente no fígado de ratos, alterações que expressassem diferenças significativas entre o lado direito, submetido à ligadura, e o lado esquerdo.

Referências bibliográficas:

1. Aronson, DC, et al. Quantitative aspects of the parenchyma-stroma relationship in experimentally induced cholestasis. *Liver* 1988; 8(2):116-26.
2. De-Vos R et al. Significance of liver canalicular change after experimental bile duct ligation. *Exp Mol Pathol* 1975; 23(1):12-34.
3. Desmet VJ. Morphologic on histochemical aspects of cholestasis. *Prog Liver Dis* 1972; 4:97-132.
4. Landmann L. Cholestasis-induced alterations of the trans and paracellular pathways in rat hepatocytes. *Histochem Cell Biol* 1995; 103(1):3-9.
5. Nakano S, Hapatake J, Hashimoto H. Alterations in bile duct and peribiliary microcirculation in rats after common bili duct ligation. *Hepatology* 1995; 21(5):1380-6.
6. Tanabe R, et al. Effects of biliary obstructio on the endocytic activity in hepatocyte and liver sinusoidal endothelial cells in rats. *Eur Surg Res* 1996; 28(3):201-11.
7. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Storer EH. *Princípios de Cirurgia*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
8. Cecil. *Tratado de Medicina Interna*. 19 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

9. Metz J, Aoki A, Merlo M, Fossmann WG. Morphological alterations and functional changes of intercellular junctions induced by bile duct ligations. *Cell Tissue Res* 1977; 182(3):299-310.
10. Vital A, Bioulac SP, Iron A, Balabaud C. Morphologic structure of bile canaliculi after bile duct ligation in the rat. *Arch Pathol Lab Med* 1982; 106(9):464-7.
11. Marinelli IA, et al. Morphological changes before and after biliodigestive derivation in experimental cirrhosis induced by biliary ligation in the rat. *Rev Esp Enferm Dig* 1995; 87(1):25-31.
12. Medeiros MV, Freitas LA, Andrade ZA. Differences in hepatic pathology resulting from bile duct obstruction in young and old rats. *Bras J Med Biol Res* 1988; 8(2):116-26.
13. d'Acampora AJ. Modelo de sepse experimental em ratos. Estudo clínico e histológico [Tese]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, 1996. 109p.
14. Stickrod G. Ketamine/xylazine anesthesia in pregnant rat. *J Am Vet Med Assoc* 1979; 175:952-3.
15. White W, Field K. Anesthesia and Surgery of Laboratory Animals. *Vet Clin N Am* 1987; 17:989-1017.
16. Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone, 2ª. ed. London. 1982. p.41-59; 95-108.
17. Yamauchi H, Koyama K, Otowa T, Ouchi K, Aneza K, Sato T. Morphometric studies on the rat liver in biliary obstruction. *Tohoku J Exp Med* 1976; 119(1): 9-25.
18. Mandarin de Lacerda CA. Métodos quantitativos em morfologia, Rio de Janeiro: EdUERJ, 1995 - 132p.
19. Tramonte R, Carvalho ROM, Ortellado DK, Serafim JDM, Dambrós JM, d'Acampora AJ. Análise morfométrica de pulmão e peritônio de ratos, após sepse experimental de origem abdominal. *Anais da XXXIV Jornada Catarinense de Debates Científicos e Estudos Médicos*, 2000, 1.
20. Bland M. *Medical Statistics*, 2ª. ed, Oxford: London. 1995, p.205-15.
21. Colton T. *Statistics in Medicine*. Little Blown, 1 ed, Boston, Massachusetts, USA. 1974. p.219-28.
22. Clause BT. The Wistar rat as a Right Choice: Establishing Mammalian Standards and the Ideal of a Standardized Mammal. *J Hist Biol* 1993.
23. Teive MB. Dilatação do colédoco em ratos pela técnica de Stripping. [Dissertação]. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 1999.
24. Wayforth HB, Flecknell PA. Experimental and Surgical Technique in the Rat. In: Academic Press. Ed Experimental and Surgical Technique in the Rat. London: Hartcourt Brace & Company, Publishers, 1992: p.116-7.
25. Wingerd BD. *Rat Dissection Manual: The Johns Hopkins University Press*, 1988.
26. Lambert R. *Surgery of the Digestive System in the Rat: Charles C. Thomas*, 1965.
27. Junqueira & Carneiro. *Histologia Básica*. 8ª. ed. Rio de Janeiro: 1995. Guanabara Koogan.
28. Desmet VJ, Bullens AM & Groote DE. A clinical and histochemical study of cholestasis. *Gut* 1970; 11:516-23.
29. Coelho JCU. *Aparelho Digestivo – Clínica e Cirurgia*. 2ª. ed. Rio de Janeiro: 1996; Medsi, 1845p.
30. Abrantes WL. Nova abordagem para o tratamento de lesões operatórias de junção dos canais hepáticos. *Rev Col Bras Cir* 1986; 13(6):251-6.
31. Drummont DAF, Abrantes WL, Soares RSQ. Lesão do ducto hepático lobar tratada por ligadura. *Rev Col Bras Cir* 1995; 22(3):171-3.
32. -----d'Acampora, et al. *Investigação Experimental - do Planejamento à Redação Final*. Papa Livro. Florianópolis, 2001. 81p.