



*Universidade Federal do Triângulo  
Mineiro*

*Avaliação morfológica e imunohistoquímica hepáticas de  
suínos (Sus scrofa) com reconstrução das vias biliares  
através da técnica de interposição do tubo de "Monti"*

*Aline Gomes de Campos*

*Uberaba - Minas Gerais  
Fevereiro - 2015*

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Aline Gomes de Campos

*Avaliação morfológica e imunohistoquímica hepáticas de suínos  
(Sus scrofa) com reconstrução das vias biliares através da técnica de  
interposição do tubo de “Monti”*

Uberaba-MG  
2015

**Aline Gomes de Campos**

***Avaliação morfométrica e imunohistoquímica hepáticas de suínos  
(Sus scrofa) com reconstrução das vias biliares através da técnica de  
interposição do tubo de “Monti”***

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Programa de “Patologia Básica e Experimental” da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do *Título de Doutor*.

***Orientador:*** Prof. Alex Augusto da Silva

***Coorientadora:*** Profa. Rosana Rosa Miranda Corrêa

Uberaba-MG  
2015

**Aline Gomes de Campos**

*Avaliação morfométrica e imunohistoquímica em biópsias hepáticas de suínos (Sus scrofa)  
com reconstrução das vias biliares através da técnica de interposição do tubo de “Monti”*

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Programa de “Patologia Básica e Experimental” da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do *Título de Doutor*.

Uberaba, 06 de fevereiro de 2015.

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Alex Augusto da Silva  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

---

Profa. Dra. Camila Lourencini Cavellani  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

---

Profa.Dra. Renata Margarida Etchebehere  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

---

Profa.Dra. Juliana Reis Machado e Silva  
Universidade Federal de Goiânia

---

Profa. Dra. Paula Ferreira da Costa  
Faculdade Dr. Francisco Maeda

**Dedico esse trabalho inteiramente à minha eterna amiga e orientadora Sílvia Azevedo Terra por ter sido uma pessoa tão iluminada e tão presente em minha vida e que, infelizmente, não pôde terminar de me auxiliar nesta caminhada.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela minha existência, saúde e fé que me protege e que, com certeza, criou um plano maravilhoso para a minha vida.

Agradeço ao meu orientador Alex Augusto pela confiança, oportunidade, paciência e anos de muito trabalho.

À minha coorientadora, Rosana Corrêa por ter mais paciência ainda, confiança, por ter passado parte do seu tempo e grande conhecimento para me auxiliar.

À minha amiga, professora e orientadora Sílvia Azevedo Terra, pela orientação e dedicação, paciência e confiança, pela oportunidade de poder repartir experiências, por todos os anos de trabalho e dedicação, por todos os momentos que passamos e por me ensinar a amar não só a Patologia, mas a vida na sua perfeita simplicidade. Está e sempre estará comigo nas lembranças, nos ensinamentos, no coração e no espírito. Agradeço também a toda a sua família (Júverson, Guilherme, Carol e João) que me apoiou e me deu forças para não desistir dessa caminhada nos momentos mais difíceis, momentos até em que acreditamos que não teríamos mais forças. Agradeço por me receberem sempre de forma carinhosa e pelo apoio na hora em que pensei em desistir.

Aos meus Pais, José Rodrigues de Campos e Sueli Flora Gomes Campos e ao meu irmão Vanderson, pelo apoio incondicional, dedicação e companheirismo e confiança, em todas as etapas de minha vida e por terem acreditado em minha formação acadêmica. A vocês não bastaria o meu muito obrigado, amo vocês.

Aos meus amigos e aquelas pessoas que considero especiais e que estiveram comigo durante toda esta jornada: Vanessa, Paula, Cléber, Carla, Eduardo, Sabrina, Leandro, Rangel, Ana, Santiago e Deise.

Aos participantes do projeto com suínos pelo aprendizado, convivência, amizade e companheirismo e por todos os momentos a mim oferecidos.

Aos meus amigos, professores e aos meus colegas de trabalho da FAFRAM que me apoiaram na continuação deste projeto e na caminhada até o final.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFTM pela paciência, insistência, críticas e ensinamentos que foram cruciais para me tornar melhor como profissional e como ser humano.

Agradeço também a todos os funcionários do Departamento de Patologia Geral da UFTM: Sônia, Alberto, Vandair, Liliane, Edson, Aloísio, Pedro e Lourimar.

O meu muito obrigada mais que especial à aqueles que me ajudaram na difícil caminhada das disciplinas, imunohistoquímicas e análises: Rosângela Jomori, Mariane Fernandes, Janaína Pacheco, Laura Penna, Carlos Júnior, Juliana Machado, Eliângela Cobô, Márcio Oliveira, Fernanda Helmo e todos os colegas de pós graduação.

Não poderia esquecer de agradecer também ao Júlio do Departamento de Cirurgia e ao André do Departamento de Pós Graduação em Patologia.

Enfim, a todos que de forma direta e indiretamente, me acompanharam e muitas vezes facilitaram mais essa etapa de minha vida.

## RESUMO

A obstrução das vias biliares é uma alteração que acomete grande parte da população humana, necessitando de técnicas que possam aumentar a eficácia da drenagem da bile, restabelecendo o fluxo biliar. Desta forma, este trabalho objetivou avaliar a eficácia da técnica da interposição do tubo de “Monti” no restabelecimento deste fluxo, a fim de minimizar as alterações hepáticas decorrentes do período de obstrução biliar induzida. Assim, sete suínos da raça Landrace, com 36 dias de vida, foram submetidos a obstrução das vias biliares e reconstrução das mesmas através da interposição jejunal com tubo de Monti. Durante os períodos pré, pós obstrução e reconstrução das vias biliares, coletou-se fragmentos de tecido hepático para avaliação imunohistoquímica e morfométrica para cirrose hepática (colágeno I e III) e quantificação de ductos biliares (ck7). A quantidade de colágeno I não foi relevante para a avaliação morfométrica e a quantidade de colágeno III e ductos biliares foi maior no período pós obstrução quando comparado com o período de reconstrução das vias biliares e pré obstrução, respectivamente. O período de obstrução manteve maiores índices de colágeno III e ductos biliares, diminuindo após a reconstrução das vias biliares. As condições nas quais o estudo foi realizado sugeriram que a técnica de interposição do tubo de Monti foi eficaz para restabelecer o fluxo biliar, já que ocorreu uma diminuição das alterações como cirrose e hiperplasia de ductos biliares.

Palavras-chave: Cirrose. Colágeno III. Ductos biliares. Obstrução biliar. Técnica cirúrgica.I



## ABSTRACT

The obstruction of the biliary tree is a change that affects most of the human population in need of techniques that can increase the efficiency of the bile drainage, restoring bile flow. Thus, this study aimed to assess the technical effectiveness of bringing the tube "Monti" in restoring this flow in order to minimize the hepatic changes resulting from induced biliary obstruction period. Thus, seven Landrace pigs, 36 days old, underwent biliary tract obstruction and reconstruction of the same through the jejunal interposition with Monti tube. During the pre, post and reconstruction obstruction of the biliary tract, collected up liver tissue samples for immunohistochemistry and morphometric evaluation for liver cirrhosis (collagen I and III) and quantification of bile ducts (CK7). The amount of collagen I was not relevant to the morphometric analysis and the amount of collagen III and bile ducts was higher in the post obstruction when compared to the period of reconstruction of the biliary tract and pre obstruction, respectively. The obstruction period maintained higher levels of collagen III and bile ducts, decreasing after the reconstruction of the biliary tract. The conditions under which the study was suggested that the technique of interposing Monti tube was effective in restoring bile flow was decreased because of changes such as cirrhosis and bile duct hyperplasia.

Keywords: Cirrhosis. Collagen III. Bile ducts. Biliary obstruction. Surgical technique

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fígado de suíno - face diafragmática demonstrando os lobos laterais (LL) e mediais (LM).....	<b>16</b>
<b>Figura 2</b> - Fígado de suíno - face visceral demonstrando lobo quadrado (LQ), lobo caudado(LC) e vesícula biliar (VB).....	<b>17</b>
<b>Figura 3</b> - Desenho esquemático das vias biliares.....	<b>18</b>
<b>Figura 4</b> - Histologia normal de fígado humano. Visualiza-se cordões de hepatócitos (ch), espaço porta (veia porta - vp, artéria hepática - ar e ducto biliar - Db) e sinusóides - si (HE, 100x).....	<b>19</b>
<b>Figura 5</b> - Posição dos trocateres durante o procedimento de videolaparoscopia em suínos para obstrução induzida das vias biliares.....	<b>39</b>
<b>Figura 6</b> - Ligadura da via biliar com clip metálico no ducto colédoco em suínos. Visualiza-se a utilização de clip metálico (seta) para obstrução do fluxo biliar ...	<b>40</b>
<b>Figura 7</b> - Escolha do segmento jejunal (seta) durante a cirurgia de laparotomia para construção do tubo de Monti e reconstrução das vias biliares, após obstrução do ducto colédoco em suínos.....	<b>41</b>
<b>Figura 8</b> - Anastomose jejuno-jejunal (seta branca) e segmento de jejuno para confecção do tubo de Monti (círculo) durante a cirurgia de laparotomia para reconstrução das vias biliares, após obstrução do ducto colédoco em suínos.....	<b>41</b>
<b>Figura 9</b> - Abertura do segmento jejunal (seta) longitudinalmente na borda anti mesentérica para construção do tubo de Monti que foi utilizado na reconstrução das vias biliares, após obstrução do ducto colédoco em suínos.....	<b>42</b>
<b>Figura 10</b> - Confecção do tubo de Monti (seta) para e reconstrução das vias biliares, após obstrução do ducto colédoco em suínos.....	<b>42</b>
<b>Figura 11</b> - Aspecto final das anastomoses jejuno jejunal (setas) após a reconstrução das vias biliares pela técnica de interposição de Monti em suínos.....	<b>43</b>
<b>Figura 12</b> - Imagem fotográfica da realização dos protocolos de imunohistoquímica para colágeno I e II e citoqueratina 7 em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.....	<b>47</b>
<b>Figura 13</b> - Imagem microscópica de corte histológico de fígado com imunohistoquímica para marcação de colágeno III (ab7778), onde realizou-se a morfometria da área marcada pelo anticorpo no período pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares em suínos. Aumento 100x. Anti colágeno III..	<b>48</b>
<b>Figura 14</b> - Imagem microscópica de corte histológico de fígado com imunohistoquímica para marcação de ductos biliares (ck7), onde realizou-se a	

contagem do número de ductos no período pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares em suínos. Aumento 100x. Anti citoqueratina 7..... 49

**Figura 15** - Imagem microscópica de imunohistoquímica para colágeno I de biópsia hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A: região interlobular sem marcação do anticorpo. B: Visualiza-se marcação do anticorpo apenas em região de vasos sanguíneos, não ocorrendo marcação em formação de nódulos (cirrose hepática). Anti colágeno I. 100x..... 52

**Figura 16** – Médias e desvio padrão da área de colágeno III em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos..... 53

**Figura 17-** Imagem microscópica de imunohistoquímica para colágeno III de biópsia hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A sequência de figuras corresponde a biópsias do mesmo animal durante os três períodos. A, B, e C: região de espaço porta. D, E, e F: região de divisão dos lóbulos hepático. A e D: período pré com quantidade de fibras colágenas menor em relação aos demais períodos. B e E: período pós obstrução com aumento da área de colágeno e formação de um novo nódulo. C e F: período após reconstrução das vias biliares com interposição do tubo de Monti com menor área de colágeno que no período pós obstrução. Hematoxilina. 100x..... 54

**Figura 18** – Médias e desvio padrão do número de ductos biliares em região de espaço porta em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos..... 55

**Figura 19-** Imagem microscópica de imunohistoquímica (ck7) para ductos biliares de biópsia hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A sequência de figuras corresponde a biópsias do mesmo animal durante os três períodos. A e D: período pré obstrução. B e E: período pós obstrução com aumento do número de ductos. C e F: período após reconstrução das vias biliares com interposição do tubo de Monti com maior número de ductos que no momento pré e menor número que no período pós obstrução das vias biliares. Anti citoqueratina 7. 100x..... 55

**Figura 20** - Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com degeneração hidrópica em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos..... 56

**Figura 21** - Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com esteatose em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos..... 57

**Figura 22** - Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com dilatação de sinusóides em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de

Monti em suínos.....	<b>58</b>
<b>Figura 23</b> - Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com infiltrado inflamatório em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.....	<b>58</b>
<b>Figura 24</b> - Imagem microscópica de processos patológicos em biópsia hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A: visualiza-se citoplasma granuloso evidenciando degeneração hidrópica (seta azul), vacúolos opticamente vazios, caracterizando esteatose (seta amarela), sinusóides dilatados (seta verde), presença de células inflamatórias em sinusóides (círculo) e núcleos de hepatócitos reacionais (seta preta).HE. 1250x B: infiltrado inflamatório moderado misto – HE – 620x.....	<b>59</b>
<b>Figura 25</b> - Valores da média da porcentagem de campos com hepatócitos reacionais em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.....	<b>59</b>
<b>Figura 26</b> - Análise multivariada das médias de todos os processos patológicos comparando os momentos pré, pós obstrução e reconstrução das vias biliares em suínos.....	<b>61</b>
<b>Figura 27</b> - Análise discriminatória das médias de todos os processos patológicos comparando os momentos pré, pós obstrução e reconstrução das vias biliares em suínos.....	<b>61</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores das análises estatísticas referentes aos parâmetros bioquímicos e ultrassonográficos durante o período de pré e pós obstrução em suínos com reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti.....	<b>51</b>
<b>Tabela 2</b> - Valores das análises estatísticas referentes aos parâmetros avaliados em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.....	<b>60</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>LLE</b>	Lobo Lateral Esquerdo
<b>LME</b>	Lobo Medial Esquerdo
<b>LLD</b>	Lobo Lateral Direito
<b>LMD</b>	Lobo Medial Direito
<b>LQ</b>	Lobo Quadrado
<b>LC</b>	Lobo Caudado
<b>Fe</b>	Ferro
<b>%</b>	Porcento
<b>GP</b>	Ganho de peso
<b>ml</b>	Militros
<b>Kg</b>	Kilogramas
<b>pV</b>	Peso vivo
<b>EV</b>	Endovenoso
<b>cm</b>	Centímetros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>PDS</b>	Fio de polidioxanona
<b>fc</b>	Frequência cardíaca
<b>fr</b>	Frequência respiratória
<b>T</b>	Temperatura
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>µm</b>	Micrômetros
<b>HE</b>	Coloração Hematoxilina-Eosina
<b>MG</b>	Estado de Minas Gerais
<b>SP</b>	Estado de São Paulo
<b>N°</b>	Números
<b>MmHg</b>	Milímetros de mercúrio
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogênio – água oxigenada
<b>Ck</b>	Citoqueratina
<b>±</b>	Mais ou menos
<b>Un</b>	unidade

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
1.1 ANATOMIA MACROSCÓPICA DO FÍGADO.....	16
1.2 ANATOMIA MICROSCÓPICA DO FÍGADO .....	18
1.3 FISIOLOGIA E HISTOFISIOLOGIA.....	20
1.4 CÁLCULOS BILIARES E COMPLICAÇÕES.....	21
1.5 BIÓPSIA HEPÁTICA E TÉCNICA EM IMUNOHISTOQUÍMICA.....	24
1.6 ALTERAÇÕES HEPÁTICAS.....	25
1.6.1 Colágeno e Fibrose.....	27
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>31</b>
<b>3 HIPÓTESE.....</b>	<b>33</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
4.1 OBJETIVO GERAL.....	35
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
5.1. LOCAL DA REALIZAÇÃO DO ESTUDO.....	37
5.2. CONCEITOS ÉTICOS.....	37
5.3 CASUÍSTICA. E DOCUMENTAÇÃO.....	37
5.4 MANEJO DOS ANIMAIS.....	37
5.5 PRÉ-OPERATÓRIO - SEDAÇÃO, TRICOTOMIA E HIGIENIZAÇÃO DOS ANIMAIS.....	38
5.6 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO E ANTISSEPSIA.....	38
5.7 PROCEDIMENTO LAPAROSCÓPICO DE OBSTRUÇÃO ATRAVÉS DA LIGADURA DA VIA BILIAR (PROCEDIMENTO CIRÚRGICO I).....	39
5.8 LAPAROTOMIA PARA DERIVAÇÃO BÍLEO DIGESTIVA (PROCEDIMENTO CIRÚRGICO II).....	40
5.9 PÓS-OPERATÓRIO.....	43

5.10 EUTANÁSIA E NECROPSIA.....	44
5.11 PREPARO DOS FRAGMENTOS PARA IMUNOHISTOQUÍMICA.....	44
5.12 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA E MORFOMÉTRICA.....	45
5.13 MÉTODOS IMUNOHISTOQUÍMICOS.....	45
5.13.1 Imunohistoquímica para colágeno I.....	45
5.13.2 Imunohistoquímica para colágeno III.....	45
5.13.3 Imunohistoquímica para quantificação de ductos biliares.....	46
5.14 ANÁLISE MORFOMÉTRICA.....	47
5.14.1 Quantificação de colágeno I e III.....	47
5.14.2 Quantificação de ductos.....	48
5.15 ANÁLISE DA GRADE DE PONTOS.....	49
5.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49
5.17 FORMATAÇÃO.....	50
<b>6 RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
6.1 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA.....	52
6.1.1 Quantificação imunohistoquímica para colágeno I e III.....	52
6.1.2 Quantificação morfométrica para ductos biliares.....	54
6.1.3 Quantificação através da análise da grade de pontos para degeneração hidrópica, esteatose, dilatação e infiltrado inflamatório em sinusóides e presença de hepatócitos reacionais.....	56
6.1.4 Avaliação dos períodos pré e pós obstrução e reconstrução das vias biliares.....	60
<b>7 DISCUSSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>8 CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>77</b>



---

*Introdução*

## 1 1 INTRODUÇÃO

### 3 1.1 ANATOMIA MACROSCÓPICA DO FÍGADO

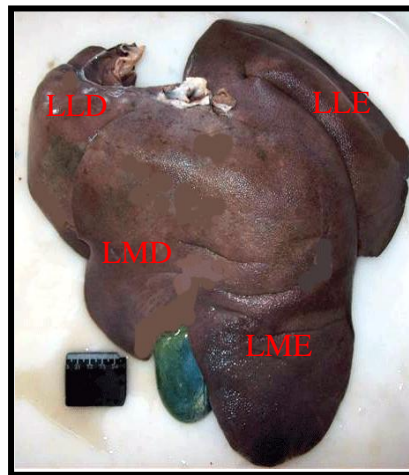
5 O fígado é um dos maiores órgãos do corpo e encontra-se situado na cavidade  
6 abdominal, abaixo do diafragma. Recebe a maior parte do seu sangue (70%) da veia porta e  
7 uma porção menor através da artéria hepática. Pela veia porta chega ao fígado todo o material  
8 absorvido nos intestinos, com exceção de parte dos lipídios que é transportada por via  
9 linfática. Este, então, metaboliza, acumula nutrientes, neutraliza e elimina substâncias tóxicas  
10 absorvidas. Essa eliminação se dá pela bile, secreção exócrina da célula hepática. A bile  
11 desempenha também importante papel na metabolização de lipídios  
12 (JUNQUEIRA;CARNEIRO, 2013).

13 O fígado humano é o maior órgão interno do corpo, pesando aproximadamente 1,3 kg  
14 nos adultos. Está posicionado abaixo do diafragma nas regiões do hipocôndrio direito e  
15 epigástrica, apresentando quatro lobos: lobo direito e esquerdo na face voltada para o  
16 diafragma que são separados pelo ligamento falciforme e na face visceral, localiza-se o lobo  
17 caudado e o lobo quadrado (VAN; KENT, 2003)

18 Nos suínos, é um órgão relativamente volumoso, sendo seu peso médio no animal  
19 adulto de cerca de 1,5 a 2,0 Kg. O mesmo está dividido em seis lobos: lateral e medial  
20 esquerdos (LLE e LME), lateral e medial direitos (LLD e LMD), quadrado (LQ) e caudado  
21 (LC), com seus processos papilar e caudado (Figuras 1 e 2). Na sua face visceral, o fígado  
22 possui uma depressão que acomoda a vesícula biliar (VB), cuja função é o armazenamento de  
23 bile. Esta é um órgão oco, com forma de pêra, preso à superfície inferior do fígado e que  
24 desemboca por meio do ducto cístico, no colédoco, que situa-se em uma fossa entre as duas  
25 partes do lobo medial direito e drena seu conteúdo através do ducto cístico. Na parte ventral  
26 da fissura portal, o ducto cístico e o hepático comum se fundem formando ducto colédoco,  
27 que se dirige ao duodeno, drenando na papila duodenal maior, liberando a bile que atuará  
28 promovendo a dissolução das gorduras advindas da alimentação (GETTY, 1986) (Figura 3).

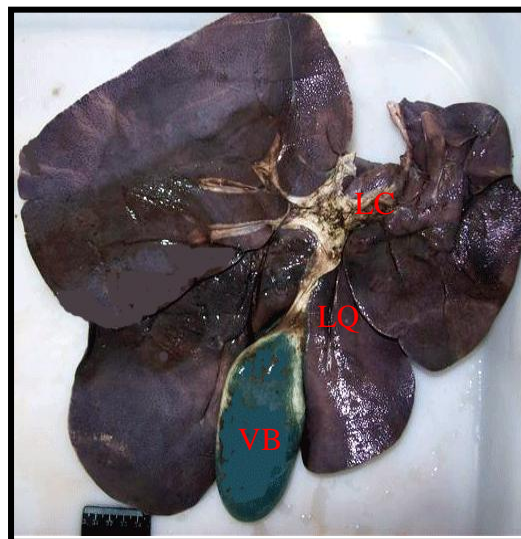
## Introdução

1 **Figura 2** - Fígado de suíno - face diafragmática demonstrando os lobos laterais (LL) e  
 2 mediais (LM).  
 3



14 Fonte: Do autor, 2008.

15  
16 **Figura 2** - Fígado de suíno - face visceral demonstrando lobo quadrado (LQ), lobo  
 17 caudado(LC) e vesícula biliar (VB).  
 18

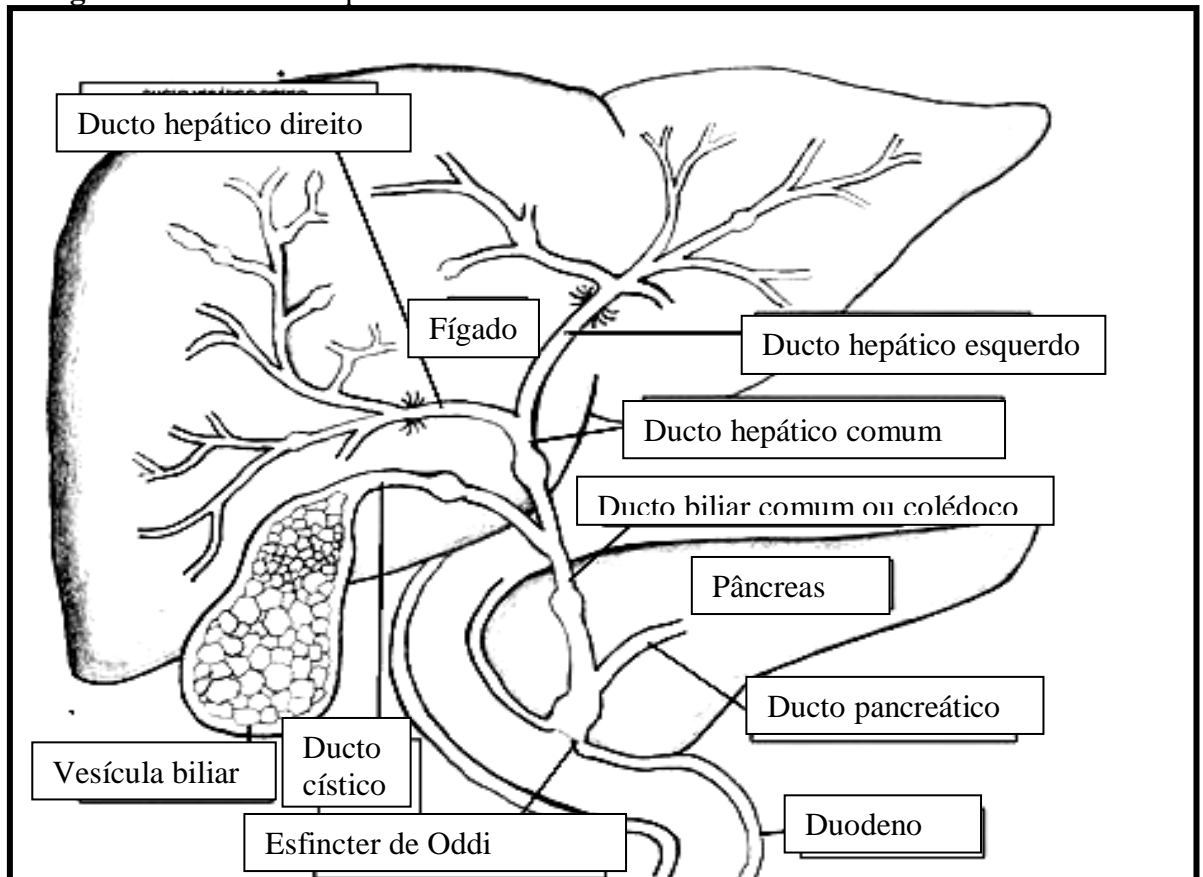


29 Fonte: Do autor, 2008.

30  
31 A veia porta e a veia cava inferior são referenciais para os segmentos proximal e  
 32 distal, respectivamente, do ducto biliar comum. O ducto biliar principal proximal, na região  
 33 do hilo, é usualmente visualizado no corte intercostal. O ducto biliar extra-hepático é uma  
 34 estrutura tubular que corre anteriormente ao tronco portal (GAYOTTO;ALVES, 2001).  
 35  
 36  
 37

## 1 1.2 ANATOMIA MICROSCÓPICA DO FÍGADO

2  
3 O fígado é constituído principalmente por células hepáticas (hepatócitos) que são  
4 células epiteliais, as quais se agrupam em placas anastomosando-se entre si e formando  
5 unidades morfológicas chamadas lóbulos hepáticos. Em certos animais, como os suínos, os  
6 lóbulos hepáticos são separados por uma nítida faixa de tecido conjuntivo. Em algumas  
7 regiões, os lóbulos ficam separados por vaso e tecido conjuntivo, que são regiões que ocupam  
8 os cantos dos poliedros, denominados de espaços porta. Estes apresentam, no seu interior,  
9 uma vênula e uma arteríola, ramos da veia porta e da artéria hepática, um ducto biliar e vasos  
10 linfáticos, todos envoltos por uma bainha de tecido conjuntivo (Figura 4) (JUNQUEIRA;  
11 CARNEIRO, 2013).

12 **Figura 3** – Desenho esquemático das vias biliares

Fonte: Adaptado de [http://www.mdsauade.com/2009\\_05\\_01\\_archive.html](http://www.mdsauade.com/2009_05_01_archive.html). 2009

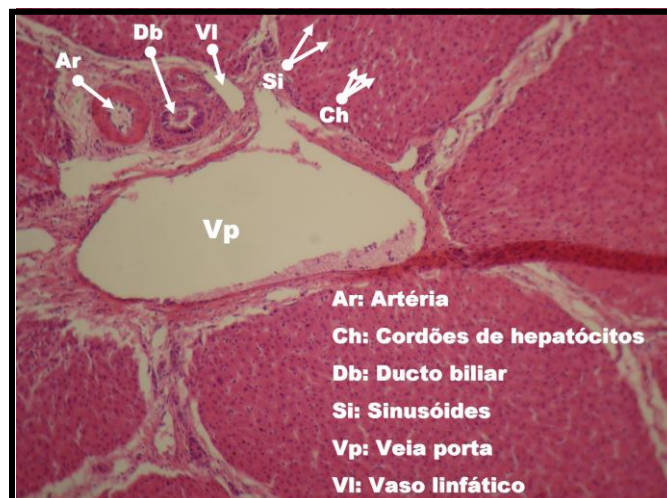
O espaço que fica entre as placas de células hepáticas é ocupado por capilares sinusóides hepáticos, que são revestidos por células endoteliais típicas dos capilares sanguíneos e macrófagos que, neste órgão, são chamados de células de Kupffer. Estas são células estreladas, de núcleo oval e nucléolo evidente, apresentam intensa atividade

## Introdução

1 fagocitária, pertencendo ao sistema mononuclear fagocitário, no qual ocorre fagocitose de  
 2 hemácias em via de desintegração, com conseqüente digestão da hemoglobina e produção de  
 3 bilirrubina. Há ainda, grande quantidade de lisossomos, cujo interior possui enzimas  
 4 necessárias para a digestão intracelular das substâncias fagocitadas. No centro do lóbulo  
 5 hepático, encontra-se a veia centrolobular, no qual desembocam os capilares sinusóides  
 6 (Figura 4) (JUNQUEIRA;CARNEIRO, 2013).

7 O fígado apresenta uma circulação sanguínea peculiar, recebendo considerável volume  
 8 de sangue venoso através da veia porta, além do sangue arterial pela artéria hepática. A veia  
 9 porta e a artéria hepática são vasos aferentes do fígado, sendo os eferentes as veias hepáticas.  
 10 A primeira se divide várias vezes em ramos mais finos, até formarem os vasos interlobulares,  
 11 localizados no espaço porta e abrem-se nos sinusóides da periferia dos lóbulos hepáticos,  
 12 levando abundante sangue venoso aos mesmos. Os ramos da artéria hepática também se  
 13 dividem nos espaços porta, dando ramos que nutrem o tecido conjuntivo interlobular e ramos  
 14 que desembocam nos sinusóides da periferia dos lóbulos, os quais levam oxigênio e nutrientes  
 15 para as células hepáticas. Estes capilares do fígado recebem sangue venoso e arterial, que se  
 16 misturam. Como o sangue percorre os sinusóides da periferia para o centro dos lóbulos, as  
 17 células hepáticas estão submetidas a um gradiente de composição sanguínea. As mais  
 18 periféricas recebem primeiro tanto os nutrientes e oxigênio, como eventuais substâncias  
 19 tóxicas trazidas pela veia porta e pela artéria hepática o que explica as diferenças do  
 20 comportamento entre as células centrolobulares e as perilobulares, mesmo em condições  
 21 normais como patológicas (JUNQUEIRA;CARNEIRO, 2013).

22 **Figura 4** - Histologia normal de fígado humano. Visualiza-se cordões de hepatócitos  
 23 (ch), espaço porta (veia porta - vp, artéria hepática - ar e ducto biliar - Db) e sinusóides  
 24 - si (HE, 100x).



25  
 26

Fonte: Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, 2010.

### 1 1.3 FISIOLOGIA E HISTOFISIOLOGIA

2  
3 O fígado é um local de acúmulo de glicogênio e uma fonte importante de glicose  
4 plasmática, sendo órgão central no processamento das gorduras da dieta em lipoproteínas, que  
5 vão ao sangue para o metabolismo periférico. Além disso, é o principal local da síntese  
6 protéica, particularmente das proteínas plasmáticas, cujos grupos importantes compreendem  
7 albumina, fatores de coagulação, proteínas ligantes do ferro e cobre, e algumas proteínas da  
8 fase aguda da inflamação. Ademais, tem grande importância no catabolismo protéico, com  
9 geração de uréia (STEVENS;LOWE, 2002).

10 O hepatócito é uma célula de grande versatilidade funcional. Tem funções glandulares  
11 endócrinas e exócrinas. Além de sintetizar e acumular vários compostos, neutraliza outros e  
12 transporta pigmentos do sangue para a bile, sendo que também renova suas próprias proteínas  
13 e sintetiza várias outras de exportação, como a albumina, a protrombina, o fibrinogênio e as  
14 lipoproteínas. Este, então, acumula as proteínas produzidas em grânulos de secreção,  
15 eliminando-as gradualmente para a corrente sanguínea (JUNQUEIRA;CARNEIRO, 2013).

16 A bile é uma secreção exócrina. São dois seus componentes principais: os ácidos  
17 biliares e a bilirrubina. Noventa por cento dos ácidos biliares provêm da reabsorção intestinal,  
18 chegando ao fígado pela veia porta e são transportados pelos hepatócitos para os canaliculos  
19 biliares. Os 10% restantes são sintetizados no hepatócito graças à conjugação de ácido cólico  
20 com os aminoácidos glicina e taurina, formando os ácidos glicocólico e taurocólico. A  
21 bilirrubina é produzida pela digestão da hemoglobina nas células do sistema mononuclear  
22 fagocitário, que inclui as células de Kupffer dos sinusóides hepáticos. Essa bilirrubina,  
23 insolúvel em água, é captada pelo hepatócito e é conjugada com o ácido glicurônico,  
24 tornando-a hidrossolúvel. O glicorunato de bilirrubina é, em seguida, secretado para o  
25 canalículo biliar. Na região do íleo intestinal os sais biliares são absorvidos, entram no cólon,  
26 onde são desconjugados e desidroxilados pelas bactérias colônicas, se transformando em  
27 ácidos biliares secundários que, em quantidades anormais, podem causar lesão epitelial e  
28 diarreia (REECE, 2006; JUNQUEIRA;CARNEIRO, 2013).

29 Nos bovinos e suínos há secreção relativamente contínua da bile para o intestino. O  
30 esfíncter de Oddi nestas espécies é menos definido. Processos diferentes de absorção  
31 modificam a concentração e composição relativas da bile hepática durante a estocagem na  
32 vesícula biliar (REECE, 2006).

---

## Introdução

1 A bile secretada pelas células hepáticas flui pelos canalículos biliares, ductulos biliares  
2 e ductos biliares. Esses ductos apresentam-se revestidos por uma mucosa constituída por  
3 células prismáticas altas, ricas em mitocôndrias. Em seguida, observa-se um tecido conjuntivo  
4 escasso, formando uma delgada lâmina própria, envolta por uma discreta camada de músculo  
5 não estriado. À medida que o ducto colédoco se aproxima do duodeno, essa camada muscular  
6 se torna mais espessa, terminando por formar um esfíncter que regula o fluxo da bile no local  
7 da sua desembocadura no duodeno (JUNQUEIRA;CARNEIRO, 2013).

8 Os sais biliares são ativamente transportados dos hepatócitos para os canalículos  
9 biliares por um processo ativo. Os cátions e a água acompanham passivamente, o que faz a  
10 bile isosmótica, o fluxo biliar depende do sal biliar e da recirculação dos sais biliares a partir  
11 do intestino. Assim, esse fluxo dependente do sal biliar será maior quando os sais biliares  
12 foram reabsorvidos no intestino e transportados de volta ao fígado para nova secreção. O  
13 segundo componente canalicular do fluxo biliar é a fração independente do sal biliar, que é  
14 mediada pelo transporte ativo de sódio. Nos ductos e ductulos biliares, há componentes  
15 reabsortivos bem como secretores de íons e água que modificam a composição da bile  
16 canalicular, controlada pela secretina. Sua função primária é liberar fluído rico em  
17 bicarbonato no intestino, auxiliando o bicarbonato pancreático na neutralização do conteúdo  
18 duodenal (REECE, 2006).

19 O fígado apresenta ainda papel importante no metabolismo dos lipídeos, sendo via de  
20 excreção de metabólitos dos mesmos. Assim, nos quadros de obstrução extra-hepática, pode-  
21 se observar hipercolesterolemia (MEYER *et al.*, 1995).

### 22 23 1.4 CÁLCULOS BILIARES E SUAS COMPLICAÇÕES

24  
25 Cálculo, concreções ou litíase são massas esferoidais, ovóides ou facetadas, sólidas,  
26 concretas e compactas, de consistência argilosa a pétrea, que se formam no interior dos órgãos  
27 ocos (bexiga, vesícula biliar), cavidades naturais (peritoneal, vaginal do testículo), condutos  
28 naturais (ureter, colédoco, ducto pancreático) ou no interior de vasos. Os constituintes dos  
29 cálculos depositam-se por precipitações sucessivas de sais inorgânicos ao redor de um núcleo  
30 orgânico, formado por agregado de células descamadas, grumos bacterianos, massas de  
31 fibrina ou de mucina, corpos estranhos, entre outros. Como resultado, os cálculos apresentam  
32 estrutura radiada ou camadas concêntricas dos elementos depositados. Como regra geral de  
33 nomenclatura, utiliza-se um termo designativo do local de formação ou origem acrescido do

---

## Introdução

1 sufixo *litíase*, para denominar a ocorrência do fenômeno, e do sufixo *lito*, para denominar o  
2 cálculo. Como exemplos mais freqüentes, citam-se os biliares (coletíase e colelitos) e os  
3 urinários (urolitíase e urolitos) (BRASILEIRO FILHO, 2011).

4 Os cálculos biliares ocorrem em média em 9,3% da população humana (TORRES *et*  
5 *al.* 2005) e, nos últimos anos, houve um aumento no diagnóstico da litíase assintomática  
6 devido ao aprimoramento de métodos diagnósticos realizados rotineiramente em pacientes  
7 com os mais variados motivos. Ao mesmo tempo, ocorreu a difusão da colecistectomia por  
8 via laparoscópica. Em decorrência do aumento do número de colecistectomia, mesmo em  
9 centros de referência, tem ocorrido maior incidência de lesões iatrogênicas de vias biliares  
10 (AHRENDT;PITT, 2001; ARCHER *et al.*, 2001; RAWES;GOUMA 2004; SEKIDO *et al.*,  
11 2004; SCHMIDT *et al.*, 2005) e tais lesões ocorrem em torno de 0,1% a 0,3% dos  
12 procedimentos laparoscópicos (TORRES *et al.*, 2005).

13 Os cálculos de vesícula biliar e das vias biliares (coletíase) constituem a causa mais  
14 comum de doenças da árvore biliar. Os cálculos formam-se a partir dos constituintes da bile,  
15 com proporções variadas dos principais componentes como colesterol, sais de cálcio (fosfatos  
16 e carbonos) e bilirrubina (na forma de bilirrubinato de cálcio). Embora a maioria dos cálculos  
17 tenha vários constituintes, os dois tipos mais importantes foram definidos de acordo com o  
18 principal constituinte de cada tipo: cálculos colesterolêmicos e cálculos pigmentares. Os  
19 cálculos colesterolêmicos são formados por supersaturação da bile com colesterol e com  
20 quantidades insuficientes de sais biliares para manter o colesterol em solução. Os cálculos  
21 pigmentares são precipitados por aumento na secreção hepática de bilirrubina  
22 (STEVENS;LOWE, 2002).

23 Nas obstruções das vias biliares, ocorrem alterações bioquímicas e morfológicas, que  
24 modificam o funcionamento normal do fígado. As principais funções hepáticas são secretar a  
25 bile, remover moléculas de glicose no sangue e armazená-las na forma de glicogênio, como  
26 fonte de energia; armazenar ferro e certas vitaminas em suas células; sintetizar diversas  
27 proteínas como fatores imunológicos, de coagulação e de substâncias transportadoras de  
28 oxigênio e gorduras; metabolizar substâncias químicas e nutrientes originados da alimentação;  
29 destruir hemácias velhas ou anormais, transformando sua hemoglobina em bilirrubina (HUNT  
30 *et al.*, 1979).

31 Danos tissulares de qualquer natureza desencadeiam de imediato uma série de eventos  
32 que resultam da ativação de células nervosas, estromais, vasculares e circulatórias por  
33 estímulos físicos ou por sinalização química feita por estruturas das células rompidas,



---

## Introdução

1 fragmentos dos elementos inertes dos tecidos (colágenos, elastinas, fibronectinas, e outros),  
2 proteínas séricas que extravasam dos vasos rompidos e por ação de mediadores inflamatórios  
3 pré-formados ou neo-sintetizados (CONTRAN *et al.*, 2001).

4 A presença de cálculos nas vias biliares leva a uma hipertrofia muscular e  
5 espessamento da parede da vesícula biliar (colecistopatia obstrutiva). Os cálculos retidos no  
6 ducto cístico predispõem à inflamação da vesícula biliar (colecistite), que pode ser aguda ou  
7 crônica e aqueles que se formam nos ductos biliares (coledocolitíase) predispõem às  
8 alterações como icterícia obstrutiva, colangite e pancreatite aguda. Os cálculos da vesícula  
9 biliar predispõem ao desenvolvimento de carcinoma no órgão (STEVENS;LOWE, 2002).

10 O bloqueio dos principais ductos biliares causa, mais comumente, um cálculo biliar.  
11 Outras causas incluem carcinoma hepático, carcinoma de ampola de Vater, estenose fibrosa, e  
12 carcinoma de vias biliares. Macroscopicamente, os ductos biliares comuns e intrahepáticos  
13 tornam-se dilatados, um sinal físico importante que pode ser facilmente detectado por  
14 ultrassom. O fígado apresenta-se esverdeado, corado e hipertrófico. Internamente, tornam-se  
15 evidentes as características de colestase extrahepática e pode ocorrer cirrose biliar secundária.  
16 Uma complicação importante desta condição é o desenvolvimento de infecção secundária que  
17 produz colangite ascendente, envolvendo os ductos biliares intrahepáticos  
18 (STEVENS;LOWE, 2002).

19 A apresentação de cistos de ducto colédoco é alterada por complicações como  
20 colangite aguda grave, hepatolitíase, perfuração espontânea, hipertensão portal, pancreatite e  
21 doença maligna das vias biliares (LAL *et al.*, 2007).

22 As fibras de colágeno do sistema ducto biliar são praticamente inelásticas, onde os  
23 volumes só podem ser alterados pela reorganização da rede. Os ductos apresentam diferentes  
24 arranjos especiais de fibras causando diferentes graus de dilatação durante a obstrução, sendo  
25 que em casos de extrema dilatação pode causar ruptura deste (STEINER *et al.* 2007,).

26 Existem diversas condições que, em humanos e animais, podem desencadear a  
27 obstrução biliar intra e extra-hepática, com conseqüente colestase; dentre elas podem ser  
28 citadas a coledocolitíase, neoplasias e outras lesões periampulares e pancreáticas (CARREL *et*  
29 *al.*, 1990).

30  
31  
32  
33

## 1 1.5 BIÓPSIA HEPÁTICA E TÉCNICA EM IMUNOHISTOQUÍMICA

2  
3 O diagnóstico das doenças hepáticas depende de uma abordagem multidisciplinar,  
4 com avaliação clínica, exames laboratoriais e de imagem, auxiliados pela biópsia hepática,  
5 que, no diagnóstico de algumas doenças, é considerada o exame mais importante e decisivo.  
6 A informação obtida pelo exame histopatológico do fígado pode ser responsável por uma  
7 importante mudança na estratégia terapêutica adotada pelo corpo clínico. A sua aplicabilidade  
8 é maior nas condições que afetam difusamente o órgão. Entretanto, as lesões focais podem ser  
9 biopsiadas com a orientação de métodos de imagem, como a ultrassonografia e a tomografia  
10 computadorizada, com bons resultados (MONTEIRO, 2009).

11 As vias de acesso podem ser percutânea, laparoscópica, cirúrgica e transvenosa (via  
12 veia jugular) (GELLER;PITMAN, 2002; SCHEUER;LEFKOWITCH, 2006). A via  
13 percutânea é a mais utilizada para o estudo das doenças que envolvem difusamente o órgão e,  
14 em geral, permite a obtenção de espécime satisfatório (MONTEIRO, 2009).

15 Para a realização da biópsia, podem ser utilizadas tanto as agulhas cortantes (Tru-cut)  
16 como as de aspiração (Silverman ou Menghini). No entanto, ambas representam métodos  
17 invasivos que requerem experiência para minimizar o risco de complicações, como  
18 sangramento, dor e peritonite biliar que, embora raras, podem ocorrer. As agulhas cortantes  
19 fornecem amostras menos fragmentadas e permitem uma avaliação mais fidedignas das lesões  
20 (GELLER;PITMAN, 2002).

21 Uma boa representatividade do parênquima é essencial para o diagnóstico  
22 histopatológico principalmente quando se faz a avaliação das hepatites crônicas (sistemas de  
23 escores de METAVIR, da Sociedade Brasileira de Patologia, de Ishak ou de Knodel) e nas  
24 doenças que envolvem os ductos biliares, nos quais se alternam espaços-portais preservados e  
25 comprometidos, podendo estes últimos não ser identificados em biópsias exíguas  
26 (GELLER;PITMAN, 2002).

27 As amostras de área subcapsular, particularmente nas hepatites crônicas, podem dar  
28 uma falsa impressão de maior gravidade das lesões, pois tanto a fibrose como o processo  
29 necro-inflamatório parecem ser mais acentuados nesta localização do que na profundidade do  
30 parênquima (SCHEUER;LEFKOWITCH, 2006).

31 Cabe ressaltar que, num pequeno número de casos, a biópsia hepática não  
32 contribuindo para um diagnóstico definitivo, pois a resposta do parênquima hepático às  
33 diferentes agressões é morfolologicamente limitada, sendo necessário associar sempre os

---

## Introdução

1 aspectos microscópicos encontrados às informações clínico-laboratoriais e de imagem  
2 (MONTEIRO, 2009).

3 Além de estabelecer o diagnóstico, a biópsia é frequentemente utilizada para avaliar a  
4 gravidade da doença, sendo que o grau reflete a velocidade com que a doença está evoluindo e  
5 o estágio representa o quanto à mesma progrediu na sua história natural, com o estágio  
6 terminal, a falência hepática ou a morte (GELLER;PITMAN, 2002;LEFKOWITCH, 2006;  
7 SCHEUER;LEFKOWITCH, 2006).

8 A técnica de imunohistoquímica utiliza-se de anticorpos específicos para auxiliar na  
9 pesquisa de marcadores prognósticos, detecções de antígenos e agentes infecciosos e na  
10 diferenciação de neoplasias, podendo ser utilizado com segurança para avaliação de processos  
11 patológicos através de marcadores específicos (PARDINI, 2010).

12 Esta técnica utiliza a especificidade de ligação dos anticorpos para se ligarem a  
13 sequências únicas de aminoácidos nas proteínas o que implica que constantemente surjam  
14 novos anticorpos para partes específicas das moléculas. Sua introdução com marcadores  
15 prognósticos e preditivos tem tido um enorme impacto benéfico sobre o diagnóstico e  
16 tratamento de diversas doenças. Deste modo, a imunohistoquímica tem implicação direta ao  
17 nível do diagnóstico, prognóstico e potencial de resposta à terapêutica. a imunohistoquímica é  
18 a única técnica que pode identificar um antígeno no tecido ou na sua localização celular.  
19 Assim, a definição de imunohistoquímica é a utilização de anticorpos específicos, marcados  
20 com reagentes adequados, para a localização de constituintes teciduais (antígenos) *in situ*  
21 (PATHOLOGIKA, 2014).

22

### 23 1.6 ALTERAÇÕES HEPÁTICAS

24

25 A capacidade auto-regenerativa é um fenômeno universal nos organismos vivos. Em  
26 organismos superiores o reparo de tecidos pode dar-se de duas formas: (1) pela regeneração  
27 recompondo a atividade funcional do tecido ou (2) pela cicatrização, com restabelecimento da  
28 homeostasia do tecido e perda da sua atividade funcional devido à formação de cicatriz  
29 fibrótica (BALBINO *et al.*,2005).

30 As células mortas e autolisadas comportam-se como um corpo estranho e  
31 desencadeiam uma resposta do organismo no sentido de promover a sua reabsorção e de  
32 permitir reparo posterior. Dependendo do tipo de tecido, do órgão acometido e da extensão da  
33 área atingida, uma área de necrose pode seguir vários caminhos: - quando este tem a

---

## *Introdução*

1 capacidade regenerativa, os restos celulares são reabsorvidos e fatores de crescimento são  
2 liberados pelas células vizinhas e pelos leucócitos exsudados, induzindo multiplicação de  
3 células parenquimatosas; - pode haver o processo de cicatrização, onde o tecido necrosado é  
4 substituído por tecido conjuntivo cicatricial; - o encistamento ocorre quando o material  
5 necrótico não é absorvido por ser muito volumoso, impedindo a migração de leucócitos,  
6 ocorrendo então à reação inflamatória com exsudação de fagócitos, sendo que estes se  
7 desenvolvem apenas na periferia da lesão, causando proliferação conjuntiva e formação de  
8 uma cápsula que encista o tecido necrosado, o qual vai sendo absorvido lentamente,  
9 permanecendo em seu interior um material progressivamente mais líquido; - se a zona de  
10 necrose atinge a parede de uma estrutura canalicular que se comunica com o meio externo, o  
11 material necrosado é lançado nessa estrutura e daí eliminado, originando uma cavidade; - a  
12 zona de necrose pode também se calcificar, embora os níveis de cálcio se elevem muito nos  
13 tecidos mortos, pouco se sabe sobre os mecanismos íntimos que regulam a calcificação nestes  
14 locais (BRASILEIRO FILHO, 2011).

15       Toxinas (álcool e drogas induzidas), infecções (virais, bacterianas e parasitárias),  
16 perturbações de vascularidade ou de excreção biliar e tumores (primários ou metastáticos) são  
17 as principais causas de doença hepática. A doença resultante manifesta-se através de quatro  
18 entidades clínicas importantes. A hepatite aguda é encontrada em doenças que causam  
19 necrose das células hepáticas, com inflamação associada e a hepatite crônica ocorre quando  
20 há inflamação hepatocelular contínua, que pode ter muitas causas e frequentemente resulta em  
21 fibrose. O dano intra ou extra-hepático das vias biliares resulta em colestase. Na cirrose, que é  
22 o ponto terminal comum da destruição hepatocelular de longa duração, por qualquer causa, o  
23 fígado apresenta extensa fibrose associada com nódulos de células hepáticas regeneradas. O  
24 desenvolvimento deste padrão de resposta provoca distorção da arquitetura hepática e leva a  
25 uma pressão retrógrada elevada nos vasos sanguíneos portais. Essas doenças hepáticas  
26 resultam em anormalidades das principais funções do fígado, tendo como consequências mais  
27 comuns icterícia, colapso na síntese e na desintoxicação (STEVENS;LOWE, 2002).

28       A icterícia resulta de anormalidades no metabolismo ou excreção da bile, podendo ser  
29 causada por metabolismo deficiente de bilirrubina em vários níveis e é classificada em dois  
30 tipos bioquímicos principais: na hiperbilirrubinemia não-conjugada existe excesso de  
31 bilirrubina não-conjugada no sangue causadas por geração excessiva de bilirrubina ou  
32 metabolismo anormal dos hepatócitos; já na hiperbilirrubinemia conjugada o excesso de  
33 bilirrubina no sangue se deve comumente à obstrução de secreção biliar (STEVENS;LOWE,

---

## *Introdução*

1 2002). Esta é o sinal clínico causado pela deposição de bilirrubina na pele, nas mucosas e na  
2 maioria dos tecidos e órgãos, em especial no fígado e nos rins, nos quais produz coloração  
3 que vai do amarelo ao negro, passando por várias tonalidades de verde (BRASILEIRO  
4 FILHO, 2011). Além da icterícia, outros sinais clínicos são característicos como ausência de  
5 bile nas fezes que, como resultado, são claras, distúrbios na absorção de gorduras e, como  
6 consequência, má absorção de vitamina K, prurido por acúmulo de sais biliares. A urina  
7 contém bilirrubina, uma vez que esta é hidrossolúvel e pode ser excretada  
8 (STEVENS;LOWE, 2002).

9 Colestase caracteriza-se por hiperbilirrubinemia conjugada e um aumento significativo  
10 nos níveis séricos de fosfatase alcalina, uma enzima normalmente localizada nas membranas  
11 celulares dos canalículos biliares, existindo dois grupos reconhecidos: - a colestase intra-  
12 hepática causada por doenças que afetam a secreção hepática da bile, seja por anormalidades  
13 dos hepatócitos ou dos canalículos biliares, seja por doença intrahepática dos ductos biliares; -  
14 colestase extrahepática é causada pelo bloqueio dos principais ductos biliares fora do fígado.  
15 Como muitas das condições responsáveis por este quadro são passíveis de intervenção  
16 cirúrgica, este tipo de problema algumas vezes é referido como icterícia cirúrgica  
17 (STEVENS;LOWE, 2002).

18

### 19 1.6.1 Colágeno e Fibrose

20

21 O colágeno é encontrado em todos os tecidos conjuntivos, tais como derme, ossos,  
22 tendões e ligamentos, e prevê também a integridade estrutural de todos os órgãos internos. Há  
23 cerca de 20 tipos diferentes de colágeno encontrados no corpo. Cada um destes é codificado  
24 por um gene específico, sendo a forma predominante o colágeno tipo I. Esta forma fibrilar de  
25 colágeno representa mais de 90 por cento do colágeno total e é composta por três cadeias de  
26 proteínas muito longas. Cada cadeia de proteína é referida como uma cadeia "alfa". Duas das  
27 cadeias alfa são idênticas e são denominadas alfa-1 da cadeia, ao passo que a terceira corrente  
28 é ligeiramente diferente e é chamado de alfa-2. As três correntes são enrolados em torno um  
29 do outro para formar uma estrutura helicoidal tripla de colágeno chamado um monômero.  
30 Esta configuração confere uma grande resistência para a proteína (DIELGEMANN, 2001).

31 Basicamente todos os colágenos apresentam esta estrutura molecular em hélice tripla,  
32 tal como descrito acima. No entanto, os vários outros tipos de colágenos podem apresentar  
33 diferentes composições de aminoácidos e fornecer outras funções específicas em nossos

---

## *Introdução*

1 corpos. □O colagénio do tipo III é encontrado também na pele, bem como em vasos  
2 sanguíneos e órgãos internos. No adulto, a pele contém cerca de 80 por cento do tipo I e 20  
3 por cento de colagénio do tipo III. Em recém-nascidos, o conteúdo do tipo III é maior do que a  
4 encontrada no adulto. Acredita-se-se que a natureza elástica da pele do recém-nascido, bem  
5 como a flexibilidade de vasos sanguíneos é devido, em parte, à presença de colagénio do tipo  
6 III. Durante o período inicial de cicatrização de feridas, há um aumento da expressão de  
7 colagénio do tipo III (DIELGEMANN, 2001).

8 Fibrases são caracterizadas por aumento do estroma conjuntivo de um órgão  
9 decorrente da cicatrização normal ou exagerada ou de um processo reacional em que a  
10 produção de matriz extracelular não está relacionada com o processo reparativo. Quando a  
11 fibrose representa este fenômeno de forma exagerada ou processo reacional, encontram-se  
12 alterações qualitativas e quantitativas nos tipos de proteínas da matriz extracelular em relação  
13 às normalmente existentes. Em consequência das modificações na arquitetura do órgão e das  
14 alterações nas funções das células parenquimatosas pela fibrose, podem surgir transtornos  
15 funcionais importantes nos locais acometidos (BRASILEIRO FILHO, 2011).

16 O fígado cirrótico é caracterizado pela deformação nodular do parênquima, fibrose e  
17 hiperplasia de ductos biliares. A cirrose é um processo difuso de fibrose e conversão da  
18 arquitetura normal do fígado em lóbulos estruturalmente anormais (CARLTON;MCGAVIN,  
19 1998; STALKER;HAYES, 2007).

20 A cirrose é caracterizada pela fibrose progressiva e reorganização da microarquitetura  
21 vascular, onde os colágenos tipo I e III são depositados em várias partes do parênquima  
22 hepático, criando faixas de colágeno subendotelial que dividem o parênquima, e a fibrose do  
23 trato portal cria largas pontes portal-portal, onde os miofibroblastos pré existentes nos tratos  
24 portais são a principal fonte de fibrose. As células de Ito podem ser fonte de excesso de  
25 colágeno que, quando lesionadas, transformam-se em células semelhantes a miofibroblastos  
26 que podem ser induzidas por citocinas pró-inflamatórias, citocinas liberadas por células  
27 endógenas, destruição da matriz extracelular normal e estimulação direta das células de Ito  
28 por toxinas ou miofibroblastos do trato portal (WANDERSON, 2009). A patogênese da  
29 fibrose septal parece envolver, além de fibroblastos, miofibroblastos provavelmente derivado  
30 do sistema de células de Ito. Os miofibroblastos parecem seguir de perto dúctulos  
31 proliferando que, portanto, têm um papel fundamental na remodelação do tecido hepático. Há  
32 consideráveis semelhanças estruturais entre a atrofia do fígado ocasionada pela obstrução das  
33 vias biliares, da veia portal e o desenvolvimento da cirrose biliar secundária. Em ambas as

---

## Introdução

1 situações a nodulação parcial segue a mudança, mas com preservação das relações vasculares.  
2 Além disso, ambas as alterações são parcialmente reversíveis nos estágios iniciais da doença e  
3 irreversíveis em estágios de atrofia e cirrose biliar secundária, consideradas, portanto,  
4 alterações graves com dinâmica semelhante, envolvendo parte do fígado, no primeiro caso e  
5 de todo o órgão, no segundo, dependendo do nível de obstrução (ZIMMERMANN, 1997).

6 O colágeno tipo I e III são encontrados normalmente nos tratos portais e em torno das  
7 veias centro lobulares, com feixes ocasionais nos espaços de Disse associados ao filamentos  
8 de reticulina (colágeno tipo IV) (WANDERSON, 2009).

9 Este processo é uma complexa interação entre a fibrose e a regeneração dos  
10 hepatócitos modificados por lesão do parênquima e em curso de inflamação. A lesão dos  
11 hepatócitos é complicada pelo desenvolvimento da fibrose e tem papel importante na  
12 evolução da doença. Quando localizada próximo as veias centro lobulares ou ao espaço porta  
13 interfere na normalidade hemodinâmica, podendo resultar em hipertensão portal e diminuição  
14 da área do parênquima hepático (BARNETT; APPELMAN; MOSELEY, 1992).

15 Além disso, o acúmulo de colágeno no espaço de Disse dificulta o tráfego metabólico  
16 normal entre sangue e hepatócitos, prejudicando a liberação de macromoléculas em  
17 circulação, resultando em disfunção celular (ORREGO *et al.*, 1987).

18 Os septos de colágeno podem apresentar infiltrado inflamatório e estruturas biliares  
19 em número variado. Em casos de cirrose bem estabelecida, o colágeno envolve os nódulos  
20 completamente, mas, no entanto, há casos de septo incompleto com envolvimento parcial dos  
21 nódulos (BARNETT; APPELMAN; MOSELEY, 1992). Os nódulos formados durante a  
22 cirrose não apresentam veia centro lobular e as demais estruturas vasculares não apresentam  
23 histologia normal, estando dispostos de forma irregular (TAKAHASHI, 1978).

24 A divisão macroscópica clássica da cirrose em micro e macronodular pode não ser  
25 compatível com o padrão histológico apresentado e nem se associa diretamente à sua  
26 etiologia, devendo ser classificada de acordo com a septação dominante para obtenção de  
27 indicadores mais precisos (ILDA *et al.*, 2005).

---

*Justificativa*



**1 2 JUSTIFICATIVA**

2

3 Segundo Visokai *et al.*, (2007), a litíase intra-hepática tem como sinais mais comuns:  
4 icterícia, colangite, obstrução, abscesso hepático e cirrose biliar secundária, sendo de baixa  
5 incidência em países de elevado índice sócio-econômico, principalmente como etiologia  
6 secundária, sendo, muitas vezes, o tratamento cirúrgico a única alternativa. Dessa forma,  
7 estudar novas técnicas de reconstrução das vias biliares seria de grande importância no  
8 tratamento das doenças dos tratos biliares.

9 Assim, no sentido de procurar uma reconstrução mais anatômica e fisiológica para as  
10 lesões extensas de via biliar, foi proposto um estudo em suínos da reconstrução da via biliar  
11 com a interposição de um “tubo” de segmento de intestino delgado, à semelhança do que  
12 Monti propôs para drenagem continente de neobexiga (MONTI; CARVALHO, 2000; MONTI  
13 *et al.*, 1997), na tentativa de restaurar a via biliar com segmento curto de intestino delgado de  
14 calibre proporcional ao do hepatocolédoco e minimizar a obstrução provocada pelas pregas  
15 circulares do segmento de jejuno. Por ser uma técnica já utilizada em humanos para drenagem  
16 de urina e reconstrução de ureter, acredita-se que esta seja capaz de restabelecer o fluxo biliar.

17 Esta técnica foi realizada entre o ducto colédoco dilatado e o duodeno, feitos com  
18 sutura manual, sendo a utilização da cirurgia laparoscópica em suínos tecnicamente viável,  
19 além de fornecer um modelo animal útil para o estudo da obstrução subaguda e crônica do  
20 ducto biliar comum e dilatação da árvore biliar para a formação intervencionista percutânea e  
21 efeitos de investigação (QIAN *et al.*, 1999, DANEZE *et al.*, 2011).

---

## *Hipótese*

---

*Hipótese***1 3 HIPÓTESE**

2

3 A técnica de interposição do tubo de Monti seja eficaz para restabelecer o fluxo biliar,  
4 diminuindo os processos patológicos no fígado encontrados durante o período de obstrução.

---

## *Objetivos*

---

## Objetivos

### 1 **4 OBJETIVOS**

2

#### 3 4.1 OBJETIVO GERAL

4 Avaliar através da utilização de métodos imunohistoquímicos e morfométricos  
5 a efetividade da interposição do tubo de “Monti” (1997) na derivação bíleo-digestiva através  
6 da avaliação dos processos patológicos encontrados em biópsias hepáticas de suínos (*Sus*  
7 *scrofa*) com reconstrução das vias biliares.

8

#### 9 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

10

11 1 Avaliar, identificar e quantificar, através da técnica de imunohistoquímica, o  
12 colágeno do tipo I;

13 2 Avaliar, identificar e quantificar, através da técnica de imunohistoquímica o  
14 colágeno tipo III;

15 3 Avaliar, identificar e quantificar, através da técnica de imunohistoquímica a  
16 proliferação de ductos nas biópsias hepáticas no momento pré e pós obstrução biliar e  
17 após derivação bíleo-digestiva por meio da interposição do tubo de Monti;

18 4 Avaliar a presença de outros processos patológicos como degeneração  
19 hidrópica, esteatose, dilatação e presença de infiltrado inflamatório dos sinusóides e  
20 hepatócito reacional.

---

## *Material e Métodos*

## 1 **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### 3 **5.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DO ESTUDO**

5 O presente estudo experimental foi realizado na Universidade Federal do Triângulo  
6 Mineiro (UFTM/Uberaba/MG), nos Departamentos de Cirurgia e Patologia Geral e no  
7 Departamento de Cirurgia e Patologia do Hospital Veterinário da Faculdade Dr. Francisco  
8 Maeda (FAFRAM/Ituverava/SP).

### 10 **5.2. CONCEITOS ÉTICOS**

12 Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Dr.  
13 Francisco Maeda, sendo aprovado sob protocolo de nº 19/2008.

### 15 **5.3 CASUÍSTICA E DOCUMENTAÇÃO**

17 Neste estudo experimental, foram utilizados sete suínos (*Sus scrofa*), machos e  
18 fêmeas, da raça Landrace, com 36 dias de idade, originários de mesma matriz, sendo,  
19 portanto, de mesma característica genética. Os animais foram submetidos à ligadura da via  
20 biliar principal por vídeo-laparoscopia e posterior derivação bileo-digestiva, por meio de  
21 laparotomia, com confecção de tubo jejunal simples.

22 Os procedimentos realizados foram registrados por meio de câmera fotográfica digital  
23 Sony Cyber Shot 5.0 megapixel como método de documentação visual que veio a ser anexada  
24 ao prontuário de cada animal e através das anotações nos prontuários dos mesmos.

### 26 **5.4 MANEJO DOS ANIMAIS**

27 Os animais, acompanhados desde o nascimento, foram identificados através da  
28 utilização de brinco plástico na orelha esquerda, vacinados contra *Mycoplasma* (Suvaxyn  
29 Respifenid MH Bacterina contra *Mycoplasma hyopneumoniae* -Fort Dodge) e contra Rinite  
30 (Suvaxyn Rinite e 3 Bacterina contra rinite atrofica, pasteurelose e erisipela suína – Fort  
31 Dodge), suplementados com Ferro dextrano (1ml) no 2º dia de vida, como tratamento  
32 preventivo de anemia e mantidos por 7 dias somente com aleitamento materno, sendo  
33 acrescentado após o sétimo dia, além do aleitamento, ração formulada pré-leitão (40% de

---

## *Material e Métodos*

1 farelo de milho, 20% de farelo de soja e 40% de núcleo 4.000) *ad libitum*. Após 30 dias de  
2 vida, os animais foram desmamados e alimentados apenas com ração formulada pré-leitão,  
3 sendo que após 60 dias de idade os animais receberam ração formulada inicial (62% de farelo  
4 de milho, 30% de farelo de soja, 5% de núcleo 500 e 3% de carboidratos).

5 Os parâmetros como ganho de peso (GP), coloração de pele, palpação abdominal,  
6 frequência cardíaca (fc), frequência respiratória (fr), temperatura (T), coloração de mucosas  
7 oral e conjuntival e esclera, urina e fezes e mucosas foram analisados 2 vezes por semana para  
8 avaliação clínica destes animais.

### 10 5.5 PRÉ-OPERATÓRIO - SEDAÇÃO, TRICOTOMIA E HIGIENIZAÇÃO DOS ANIMAIS

12 O procedimento pré-operatório foi comum aos procedimentos cirúrgicos I  
13 (videolaparoscopia) e II (laparotomia) e à eutanásia e necropsia.

14 Nas 12 horas antecedentes ao procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos em  
15 jejum de sólido e líquido e receberam banho de ducha fria para limpeza corporal.

16 Os animais foram sedados com acepromazina a 1% (0,2ml/kg) e submetidos à  
17 tricotomia da região abdominal ventral.

### 19 5.6 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO E ANTISSEPISIA

21 Após 10 minutos de sedação, procedeu-se ao cateterismo da veia safena medial, com  
22 infusão de solução glicofisiológica e cada animal recebeu, por via endovenosa, a anestesia  
23 dissociativa tiletamina (anestésico) /zolazepam (tranqüilizante) na dose de 0,20 ml/kg/EV,  
24 associado ao fentanil (0,2ml/kg por via endovenosa), além de 0,5ml de sulfato de atropina.  
25 Durante o procedimento cirúrgico, monitorando-se sinais vitais, temperatura, reflexo  
26 palpebral, faríngeo e das secreções salivares e brônquicas. A manutenção anestésica deu-se  
27 com doses de 1/3 a 1/2 da dose original do anestésico. Após o término dos procedimentos  
28 cirúrgicos os animais foram acompanhados até sua completa recuperação anestésica.



## 5.7 PROCEDIMENTO LAPAROSCÓPICO DE OBSTRUÇÃO ATRAVÉS DA LIGADURA DA VIA BILIAR (PROCEDIMENTO CIRÚRGICO I)

Findado o procedimento anestésico e antisepsia, foi colocado o campo cirúrgico e realizada uma incisão de 1 cm cranial à cicatriz umbilical na linha Alba por meio da qual iniciou-se pneumoperitônio com agulha de Verres, ajustando a pressão intracavitária para 7mmHg. Em seguida, foram posicionados 4 trocateres – sendo 1 trocater de 10mm acima do umbigo, 1 trocater de 5mm no hipocôndrio direito e 1 trocater de 10mm no hipocôndrio esquerdo e 1 trocater de 5mm no flanco direito (Figura 5).

**Figura 5** - Posição dos trocateres durante o procedimento de videolaparoscopia em suínos para obstrução induzida das vias biliares.

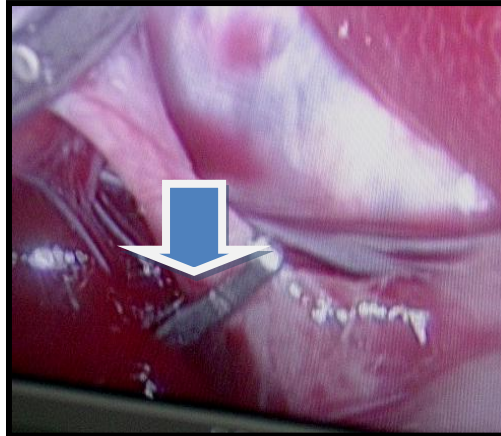


Fonte: Do autor, 2008

Realizou-se a formação do pneumoperitônio e, em seguida, a avaliação laparoscópica da cavidade abdominal bem como biópsias hepáticas dos lobos laterais direito e esquerdo e mediais direito e esquerdo, sendo uma metade de cada biópsia fixado em solução de formaldeído a 3,7% e a outra metade em álcool 70% para estudos futuros. Coletou-se, ainda, bile através de punção da vesícula biliar para cultura.

Posteriormente, dissecaram-se as estruturas perihilares e foi realizada a ligadura laparoscópica do ducto colédoco, utilizando clip metálico com o intuito de produzir uma icterícia obstrutiva total (Figura 6). Após o procedimento de ligadura, revisou-se a hemostasia e desfeito o pneumoperitônio com fechamento dos orifícios da parede abdominal com fio de algodão 2-0 bem como da pele com mononylon 3-0.

1 **Figura 6** - Ligadura da via biliar com clip metálico no ducto colédoco em suínos.  
2 Visualiza-se a utilização de clip metálico (seta) para obstrução do fluxo biliar.



11 Fonte: Do autor, 2008

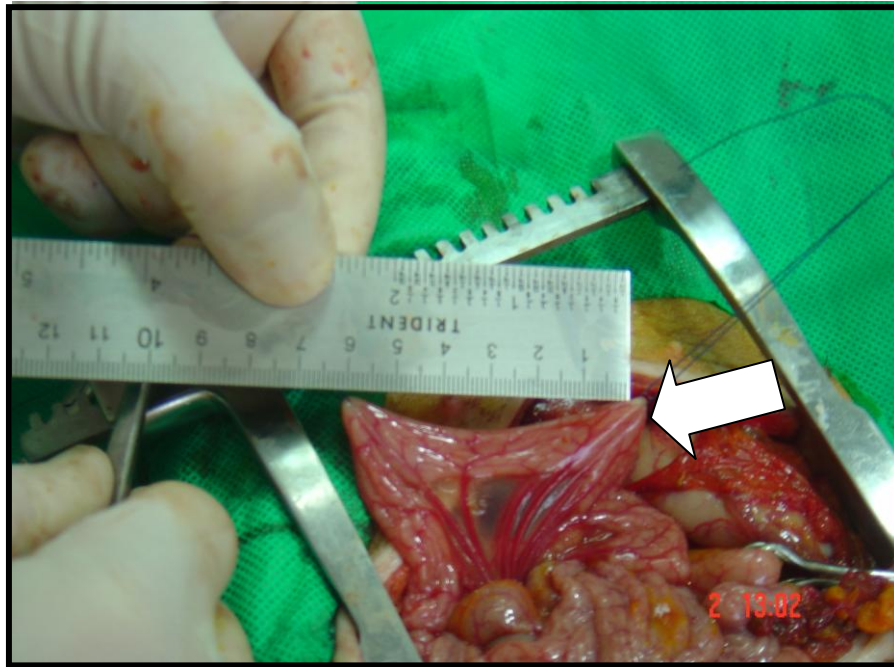
12  
13 **5.8 LAPAROTOMIA PARA DERIVAÇÃO BÍLEO DIGESTIVA (PROCEDIMENTO**  
14 **CIRÚRGICO II)**

15  
16 Decorridos 7 dias do procedimento de ligadura das vias biliares, após realização de  
17 protocolo anestésico e de antissepsia, realizou-se laparotomia mediana xifo umbilical com  
18 avaliação da cavidade abdominal, colecistectomia, coleta de biópsia hepática dos lobos  
19 laterais e mediais direito e esquerdo para análise anatomopatológica e de bile para cultura.  
20 Para reconstrução da via biliar utilizou-se segmento de 5 cm do jejuno retirado cerca de 20 cm  
21 abaixo do ângulo de Treitz (Figura 7). O trânsito alimentar foi reconstruído com anastomose  
22 jejuno-jejunal em plano único com algodão 3-0 (Figura 8).

23 O segmento de jejuno foi aberto longitudinalmente na borda antimesentérica (Figura  
24 9), conforme descrito por Monti (1997), e foi confeccionado o tubo jejunal por meio de sutura  
25 contínua com fio de polidioxanona (PDS) 4-0 (Figura 10). Realizou-se a anastomose do ducto  
26 hepático com a borda proximal do tubo jejunal em plano único com pontos separados de PDS  
27 4-0, e a borda distal anastomosada ao duodeno utilizando-se a mesma técnica (Figura 11).

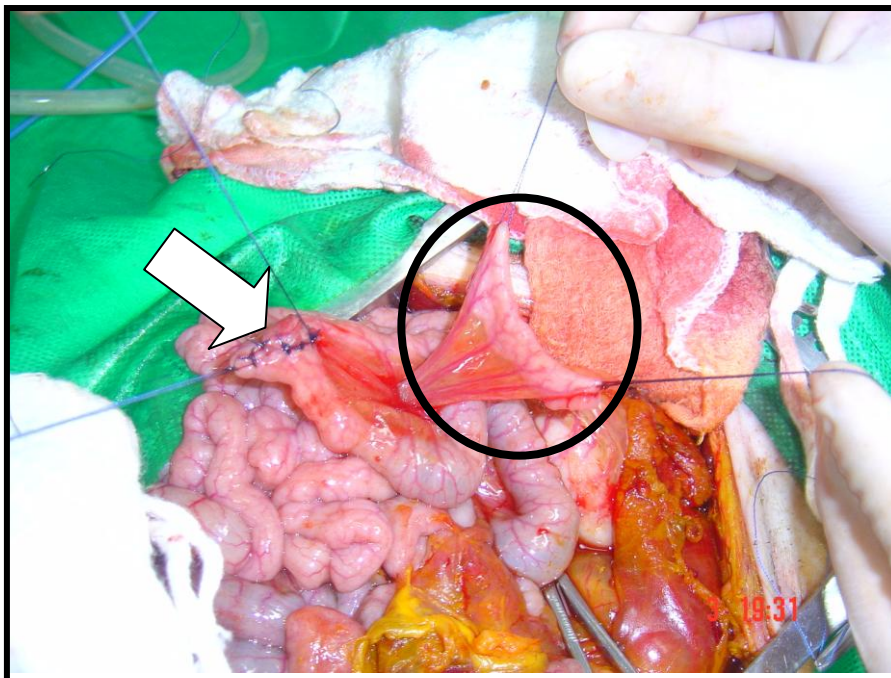
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36

1 **Figura 7** - Escolha do segmento jejunal (seta) durante a cirurgia de laparotomia para  
2 construção do tubo de Monti e reconstrução das vias biliares, após obstrução do ducto  
3 colédoco em suínos.  
4  
5



17 Fonte: Do autor, 2008

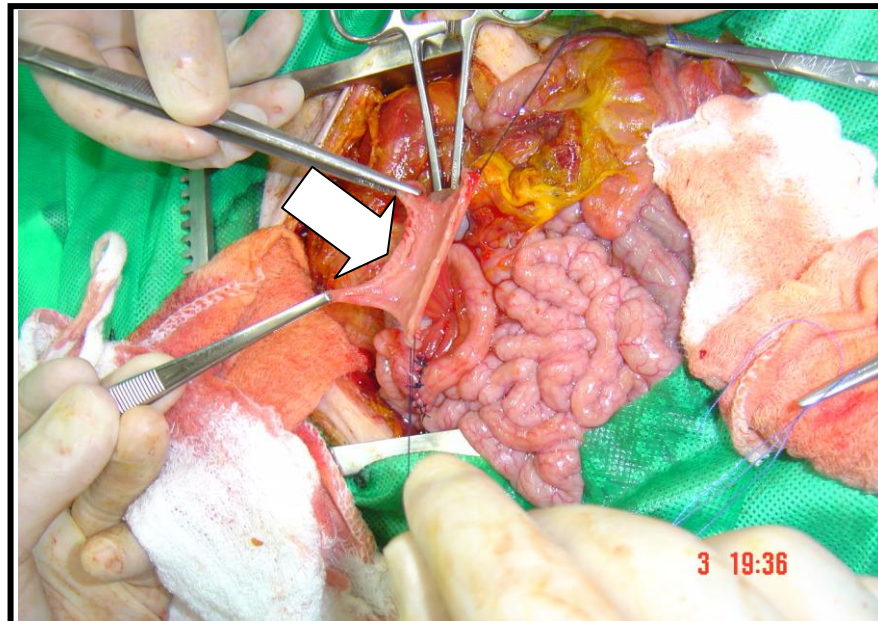
18 **Figura 8** - Anastomose jejuno-jejunal (seta branca) e segmento de jejuno para  
19 confecção do tubo de Monti (círculo) durante a cirurgia de laparotomia para  
20 reconstrução das vias biliares, após obstrução do ducto colédoco em suínos.  
21  
22



35 Fonte: Do autor, 2008.

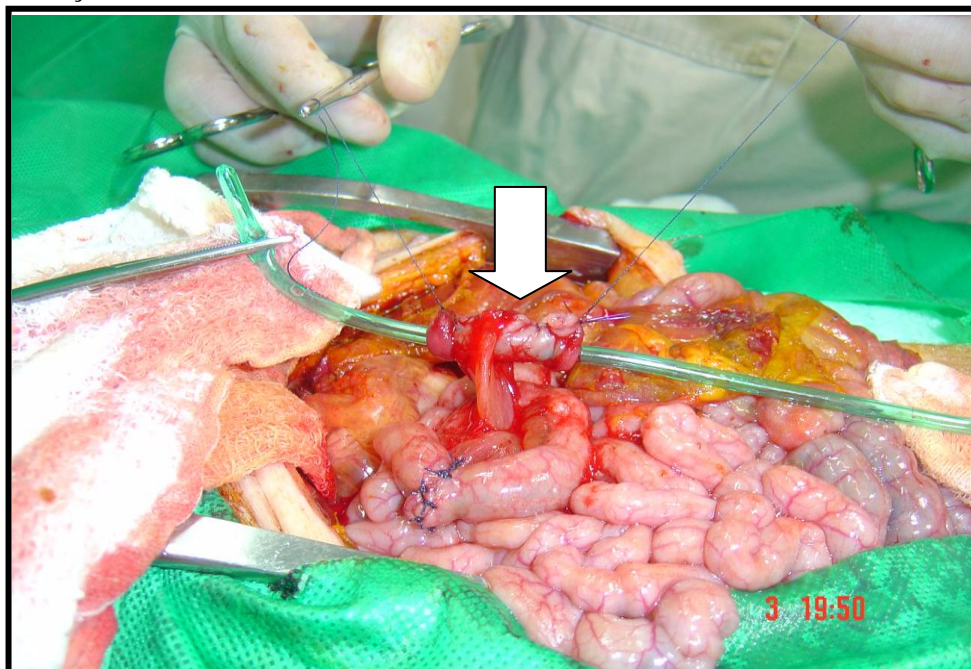


1 **Figura 9** - Abertura do segmento jejunal (seta) longitudinalmente na borda anti  
2 mesentérica para construção do tubo de Monti que foi utilizado na reconstrução das  
3 vias biliares, após obstrução do ducto colédoco em suínos.  
4



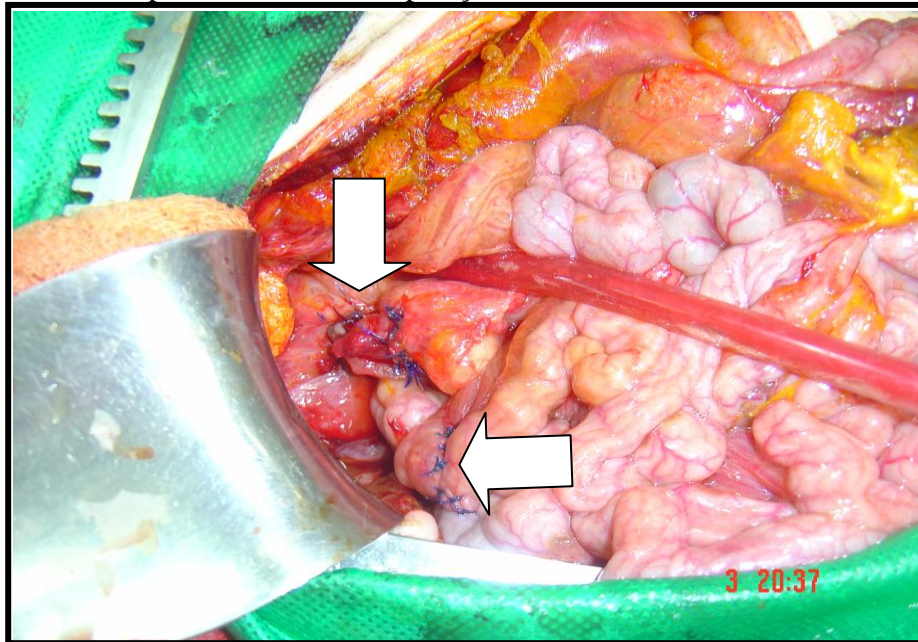
16 Fonte: Do autor, 2008

17  
18 **Figura 10** - Confeção do tubo de Monti (seta) para e reconstrução das vias biliares,  
19 após obstrução do ducto colédoco em suínos.  
20



33 Fonte: Do autor, 2008

**Figura 11** - Aspecto final das anastomoses jejuno jejunal (setas) após a reconstrução das vias biliares pela técnica de interposição de Monti em suínos.



Fonte: Do autor, 2008

### 5.9 PÓS-OPERATÓRIO

Após os procedimentos cirúrgicos já descritos, como cuidados pós-operatórios, os animais receberam, por via intramuscular ou endovenosa, antibioticoterapia (enrofloxacina 1ml/10kg/SC), antiinflamatório não esteroideal e permaneceram sob a avaliação dos parâmetros como ganho de peso (GP), palpação abdominal, frequência cardíaca (fc), frequência respiratória (fr), temperatura (T), coloração de mucosas, urina e fezes e curativo das incisões cirúrgicas, diariamente durante 10 dias.

Antecedendo os procedimentos cirúrgicos e de necropsia, para confirmação da icterícia obstrutiva, realizou-se exames bioquímicos de dosagem de gama-glutamilttransferase ( $\delta$ -GT) e bilirrubina direta, indireta e total. e ultrassonográficos com a mensuração do diâmetro do ducto colédoco antes e após o procedimento de obstrução biliar e após a reconstrução do ducto colédoco com a técnica de Monti.

## 1 5.10 EUTANÁSIA E NECROPSIA

2  
3 Decorridos 45 dias após a derivação bileo digestiva, os animais foram submetidos à  
4 eutanásia e necropsia, sendo coletados fragmentos de todos os órgãos para a avaliação  
5 histopatológica e para arquivo, em formol a 3,7% e em álcool a 70%.

6 Os animais que vieram a óbito antes de decorridos os 45 dias também foram  
7 necropsiados e os fragmentos de tecido hepático coletados.

## 9 5.11 PREPARO DOS FRAGMENTOS PARA IMUNOHISTOQUÍMICA

10  
11 Os fragmentos coletados foram colocados em formaldeído a 3,7% e durante seu  
12 processamento foram submetidos à desidratação gradativa, na qual o material foi retirado do  
13 fixador e colocado em uma bateria de álcoois que variaram de 70% a absoluto,  
14 permanecendo, no mínimo, 2 horas em cada concentração. Em seguida, foram colocados em  
15 uma solução 1:1 de álcool absoluto e xilol e, posteriormente, em solução de xilol puro, no  
16 qual permaneceram por, pelo menos, 2 horas.

17 Dessa forma, o material já diafanizado foi submetido à infiltração, um processo no  
18 qual os cortes foram colocados em parafina líquida (temperatura de 60°C) por um período 60  
19 minutos, tendo sido realizada uma troca da parafina na metade do período. Logo após a  
20 infiltração, o material foi incluído em moldes metálicos contendo parafina líquida,  
21 procedimento realizado à temperatura ambiente, atentando-se para a identificação dos  
22 mesmos. Decorrida a solidificação da parafina, os blocos contendo os fragmentos foram  
23 submetidos à microtomia, sendo obtidos cortes de, aproximadamente, 5 micrômetros de  
24 espessura. Estes cortes foram colocados em banho-maria (em torno de 45°C), o que  
25 proporcionou a sua distensão, evitando dobras nos mesmos. Na sequência, estes cortes foram  
26 capturados, cada qual com uma lâmina que previamente recebeu um esfregaço com substância  
27 adesiva (silano) e, por fim, arquivados para avaliação imunohistoquímica.

28 As lâminas preparadas para este estudo receberam identificação diferente da utilizada  
29 para os animais a fim de prevenir viés de tendência. Avaliaram-se todas as biópsias realizadas  
30 no Lobo Lateral Esquerdo em três momentos: antes da obstrução do ducto colédoco  
31 (videolaparoscopia), sete dias após a obstrução (laparotomia) e após a derivação bileo-jejunal  
32 (eutanásia e/ou necropsia), contabilizando um total de 63 lâminas.

## 1 5.12 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA E MORFOMÉTRICA

2  
3 A análise imunohistoquímica e morfométrica foi realizada no Departamento de  
4 Patologia Geral da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, onde realiaram-se os  
5 procedimentos de avaliação e preparação das lâminas.

## 6 7 5.13 MÉTODOS IMUNOHISTOQUÍMICOS

### 8 9 5.13.1 Imunohistoquímica para colágeno I

10  
11 Os cortes de 5  $\mu\text{m}$  foram fixados nas lâminas com silano, posteriormente  
12 desparafinizados em xilol por 20 minutos, hidratados em álcoois decrescentes até água  
13 destilada. No processo de recuperação antigênica utilizou-se as lâminas mergulhadas em  
14 tampão Citrato pH 6,0 por vinte minutos em panela de Pascal, a 97°C e depois foram  
15 resfriados em temperatura ambiente. A lavagem das lâminas foi realizada com tampão PBS  
16 0,05M + Triton<sup>®</sup> X – 100 0,05%. Realizou-se o bloqueio da peroxidase com solução de água  
17 oxigenada a 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 15 minutos e, posteriormente, o bloqueador de proteínas por 10  
18 minutos.

19 O anticorpo anti colágeno I (Abcam ab90395, EUA) foi colocado na concentração de  
20 1/50 (diluídos em solução de BSA 1%) sobre as lâminas por um período de 2 horas. O  
21 material foi lavado novamente e incubado com o anticorpo pós primário (Novolink – Leica)  
22 por cerca de trinta minutos. Realizou-se novamente a lavagem com PBS + Triton e, então,  
23 adicionou-se o polímero (Novolink – Leica) que permaneceu sobre os cortes por trinta  
24 minutos. Após esta fase, o material foi incubado com o substrato da peroxidase (DAB), à  
25 temperatura ambiente e, passado, aproximadamente, três minutos, à revelação, as lâminas  
26 foram colocadas em água destilada, contra coradas com hematoxilina e montadas em entelan.

27 Como controle positivo, utilizou-se tecido epitelial de suíno e como controle negativo,  
28 o mesmo corte sem aplicação do anticorpo primário.

### 29 30 5.13.2 Imunohistoquímica para colágeno III

31  
32 Os cortes de 4 a 5  $\mu\text{m}$  foram fixados nas lâminas com silano, posteriormente  
33 desparafinizados em xilol por 20 minutos, hidratados em álcoois decrescentes até água

1 destilada. No processo de recuperação antigênica utilizou-se as lâminas mergulhadas em  
2 tampão Citrato pH 6,0 por vinte minutos em panela de Pascal, a 97°C e depois foram  
3 resfriados em temperatura ambiente. A lavagem das lâminas foi realizada com tampão PBS  
4 0,05M + Triton<sup>®</sup> X – 100 0,05%. Realizou-se o bloqueio da peroxidase com solução de água  
5 oxigenada a 5% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 90 minutos e, posteriormente, o bloqueador de proteínas por 40  
6 minutos.

7 Os anticorpo anti colágeno III (Abcam ab7778, USA) foi colocado na concentração de  
8 1/100 (diluídos em solução de BSA 1%) sobre as lâminas por um período de 2 horas. O  
9 material foi lavado novamente e incubado com o anticorpo pós primário (Novolink – Leica)  
10 por cerca de trinta minutos. Realizou-se novamente a lavagem com PBS + Triton e, então,  
11 adicionou-se o polímero (Novolink – Leica) que permaneceu sobre os cortes por trinta  
12 minutos (Figura 12). Após esta fase, o material foi incubado com o substrato da peroxidase  
13 (DAB), à temperatura ambiente e, passado, aproximadamente, um minuto, à revelação, as  
14 lâminas foram colocadas em água destilada, contra coradas com hematoxilina e montadas em  
15 entelan.

16 Como controle positivo, utilizou-se fígado humano com cirrose e como controle  
17 negativo, o mesmo corte sem aplicação do anticorpo primário.

18

### 19 5.13.3 Imunohistoquímica para quantificação de ductos

20

21 Os cortes de 4 a 5 µm foram fixados nas lâminas com silano, posteriormente  
22 desparafinizados em xilol por 20 minutos, hidratados em álcoois decrescentes até água  
23 destilada. No processo de recuperação antigênica utilizou-se as lâminas mergulhadas em  
24 tampão Citrato pH 6,0 por vinte minutos em panela de Pascal, a 97°C e depois foram  
25 resfriados em temperatura ambiente. A lavagem das lâminas foi realizada com tampão PBS  
26 0,05M + Triton<sup>®</sup> X – 100, 0,05%. Realizou-se o bloqueio da peroxidase com solução de água  
27 oxigenada a 5% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 90 minutos e, posteriormente, o bloqueador de proteínas por 40  
28 minutos.

29 O anticorpo anti citoqueratina 7 (ck7) (Dako M7018, EUA) foi colocado na  
30 concentração de 1/50 (diluídos em solução de BSA 1%) sobre as lâminas por um período de 2  
31 horas. O material foi lavado novamente e incubado com o anticorpo pós primário (Novolink –  
32 Leica) por cerca de trinta minutos. Realizou-se novamente a lavagem com PBS + Triton e,  
33 então, adicionou-se o polímero (Novolink – Leica) que permaneceu sobre os cortes por trinta

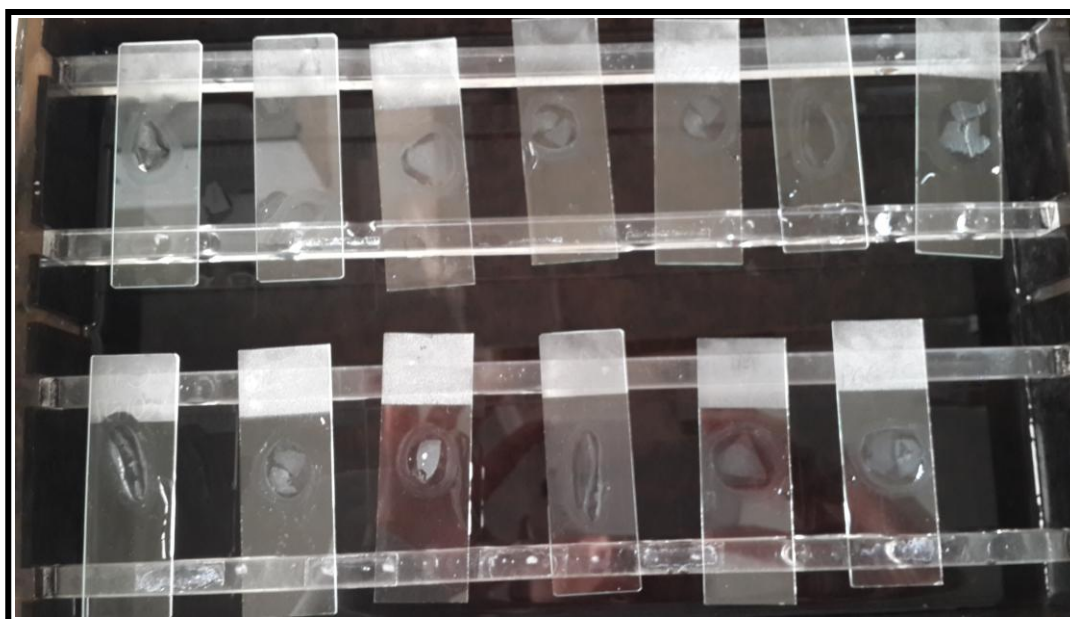


## Material e Métodos

1 minutos. Após esta fase, o material foi incubado com o substrato da peroxidase (DAB), à  
2 temperatura ambiente e, passado, aproximadamente, um minuto, à revelação, as lâminas  
3 foram colocadas em água destilada, contra coradas com hematoxilina e montadas em entelan.

4 Como controle positivo, utilizou-se fígado humano com cirrose e como controle  
5 negativo, o mesmo corte sem aplicação do anticorpo primário.

6 **Figura 12** - Imagem fotográfica da realização dos protocolos de imunohistoquímica  
7 para colágeno I e II e citoqueratina 7 em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo  
8 durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da  
9 interposição do tubo de Monti em suínos.  
10



11  
12 Fonte: Do autor, 2014.  
13

### 14 5.14 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

15

16 Para as análises morfométricas das quantidades de cada um dos marcadores avaliados  
17 e dos receptores, utilizou-se o programa *Leica Microsystem*<sup>®</sup>.

18 A morfometria foi realizada nas biópsias do período pré obstrução, pós obstrução e  
19 após reconstrução das vias biliares utilizando interposição do tubo de Monti de cada animal  
20 (Figura 13).

21

#### 22 5.14.1 Quantificação de colágeno I e III

23

24 As lâminas marcadas pelos anticorpos anti colágeno I e III, separadamente, foram  
25 submetidas à morfometria com captura de 10 campos aleatórios, calculados através de média

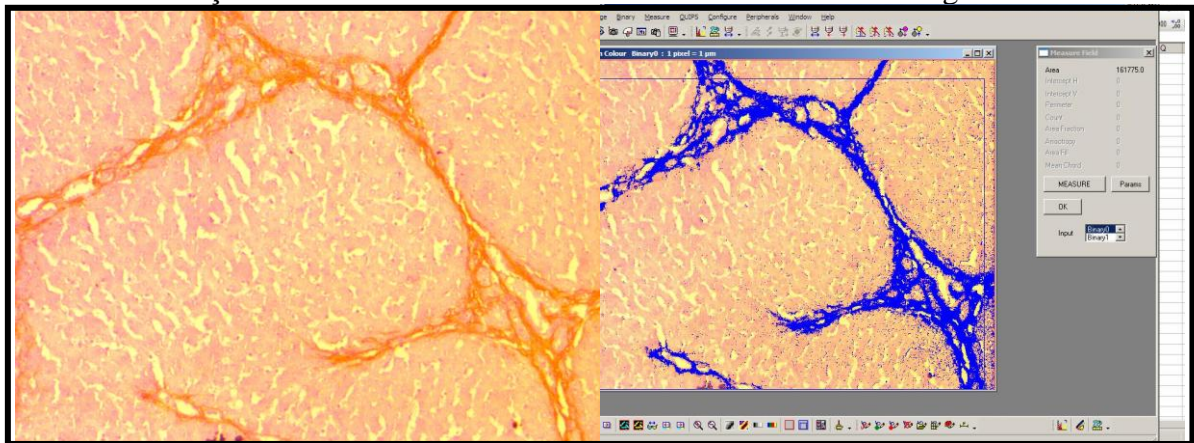
## Material e Métodos

1 acumulada em cada fragmento, com ou sem marcação do anticorpo para quantificação da área  
2 contendo colágenos I e III.

3 O campo a ser quantificado era capturado por meio de uma câmera acoplada ao  
4 microscópio e ao computador para digitalização da imagem com um aumento de 100x.

5 As áreas com marcação do anticorpo realizado pela imunohistoquímica era marcada  
6 pelo observador e obtinha-se o percentual da área do campo a ser quantificado. A  
7 porcentagem da área marcada pelo anticorpo foi medida e calculada a média para análise  
8 estatística.

9 **Figura 13** - Imagem microscópica de corte histológico de fígado com  
10 imunohistoquímica para marcação de colágeno III (ab7778), onde realizou-se a  
11 morfometria da área marcada pelo anticorpo no período pré e pós obstrução e após  
12 reconstrução das vias biliares em suínos. Aumento 100x. Anti colágeno III.



Fonte: Do autor, 2014

13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27

### 5.14.2 Quantificação de ductos

As lâminas marcadas pelo anticorpo anti citoqueratina 7 (ck7), foram submetidas à morfometria com captura de 10 campos aleatórios em cada fragmento, com marcação do anticorpo para quantificação do número de ductos em região de espaço porta. Realizou-se a contagem da quantidade de ductos presentes em cada campo em biópsias do período pré obstrução, pós obstrução e derivação bileo digestiva de cada animal, utilizando um aumento de 100x (Figura 14).

1

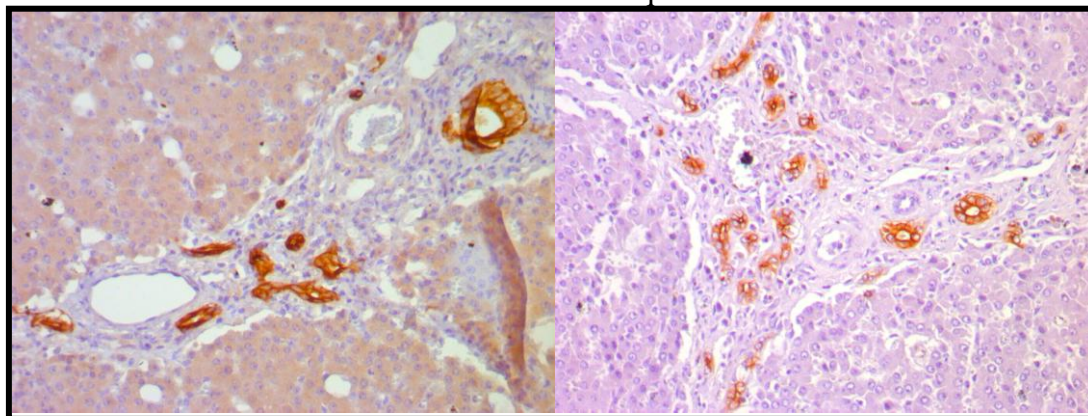
2

3

4

5

**Figura 14** - Imagem microscópica de corte histológico de fígado com imunohistoquímica para marcação de ductos biliares (ck7), onde realizou-se a contagem do número de ductos no período pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares em suínos. Aumento 100x. Anti citoqueratina 7.



6

7

Fonte: Do autor, 2014.

8

9

#### 5.15 ANÁLISE DA GRADE DE PONTOS

10

11

Os processos patológicos como degeneração hidrópica, esteatose, dilatação e presença de células inflamatórias em sinusóides e hepatócitos reacionais foram avaliados nos cortes corados com Hematoxilina Eosina (HE) no aumento de 400x.

13

14

Selecionou-se aleatoriamente 10 campos que foram avaliados com uma ocular apresentando uma grade com 25 pontos. Em cada campo foi contabilizado o número de pontos que coincidiam com a lesão avaliada e o ponto presente na grade. Do número total de pontos coincidentes com a lesão foi calculada a porcentagem de cada lesão.

16

17

18

19

#### 5.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

20

21

As médias das variáveis dos três grupos (pré-obstrução, pós obstrução e reconstrução das vias biliares) foram avaliadas pela análise de variância paramétrica e, quando detectadas diferenças significativas entre os grupos, as médias foram comparadas pelo teste Anova e Tukey, a 5% de probabilidade.

23

24

25

Os dados foram verificados quanto à normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade das variâncias (Bartlett).

26

27

Ainda, para complementar a interpretação dos resultados, os dados também foram analisados pela estatística multivariada, por meio de análise de agrupamento hierárquico,

28

1 visando classificar os grupos pela maximização da homogeneidade dentro de grupos e  
2 maximização da heterogeneidade entre os grupos, em termos das características (variáveis)  
3 analisadas. Para o processamento da análise de agrupamento hierárquico, utilizou-se a  
4 “medida de dissimilaridade euclidiana como o coeficiente de semelhança”. O método de  
5 agrupamento aplicado para identificar a similaridade entre grupos foi o de Ward.

6 O resultado foi apresentado de forma gráfica (dendograma) para a identificação dos  
7 agrupamentos.

8 Todas as análises estatísticas foram efetuadas no programa Statistica versão 7.0  
9 (Statsoft 2004).

10

#### 11 5.17 FORMATAÇÃO

12 Este trabalho segue as normas do Manual para elaboração de trabalhos acadêmicos  
13 baseado nas normas de documentação da ABNT presente na Biblioteca Central da  
14 Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

15

---

## *Resultados*

## 6 RESULTADOS

Após 3 dias do procedimento de obstrução das vias biliares, os animais apresentaram como sinais clínicos mais frequentes pele e mucosas amareladas em níveis de discretos a acentuados, urina com coloração fortemente amarelada, fezes com tom castanho mais claro que o observado antes da ligadura, bem como hepatomegalia à palpação.

Além dos sinais clínicos evidentes de icterícia apresentaram alterações bioquímicas significativas de obstrução biliar como aumento dos níveis de bilirrubina e suas frações, gama-glutamiltransferase (GGT) (Tabela 1).

A avaliação ultrassonográfica confirmou durante o período pré obstrução a dilatação do ducto colédoco (Tabela 1).

**Tabela 1** - Valores das análises estatísticas referentes aos parâmetros bioquímicos e ultrassonográficos durante o período de pré e pós obstrução em suínos com reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti.

Parâmetros avaliados	Pré obstrução	Pós obstrução	Valor de p
<b>Diâmetro ducto colédoco</b>	3,250 ±2,500	11,000 ±6,683	0,069
<b>GamaGT 10-60 (UI/L)*</b>	38,167 ±14,552	113,500 ±47,970	0,028
<b>Bilirrubina Direta (0-0,3mg/dL)*</b>	0,0500 ±0,0548	1,233 ±0,954	0,027
<b>Bilirrubina Indireta (0-0,3 mg/dL)*</b>	0,150 ±0,0837	1,167 ±0,997	0,050
<b>Bilirrubina Total (0-0,6 mg/dL)*</b>	0,200 ±0,126	2,400 ±1,919	0,035

\* Valores de Referência - Meyer;Coles,1995

Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

Durante o período de reconstrução das vias biliares, quatro animais evoluíram à óbito antes do período de 45 dias para realização da eutanásia. A *causa mortis* estava relacionada à um quadro de coleperitônio (extravasamento de bile para a cavidade abdominal devido à coleta de bile durante o procedimento cirúrgico), não havendo complicações decorrentes da técnica cirúrgica. Neste caso, o tempo de avaliação dos processos patológicos foi menor em alguns animais.

A avaliação clínica (peso, temperatura, frequências cardíaca e respiratória) se encontrou dentro dos parâmetros normais. A cultura da bile não evidenciou a contaminação por nenhum microrganismo nas amostras avaliadas.



## Resultados

### 1 6.1 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

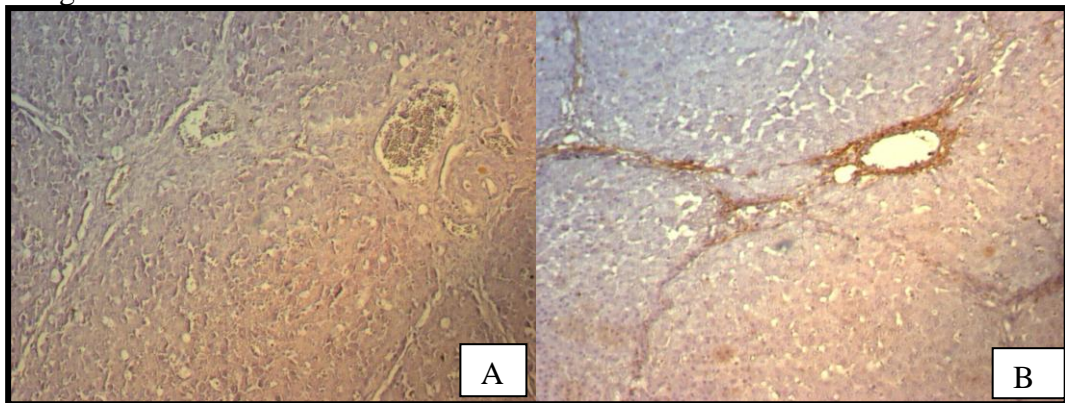
2

#### 3 6.1.1 Quantificação imunohistoquímica para colágeno I e III

4

5 O anticorpo colágeno I não apresentou áreas possíveis de marcação envolvendo os  
6 lobos hepáticos, marcando apenas regiões de vasos sanguíneos e espaço porta, não  
7 interferindo na histologia normal do tecido em nenhum dos momentos avaliados (pré, pós  
8 obstrução e reconstrução das vias biliares) (Figura 15).

9 **Figura 15** - Imagem microscópica de imunohistoquímica para colágeno I de biópsia  
10 hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A: região interlobular sem marcação do  
11 anticorpo. B: Visualiza-se marcação do anticorpo apenas em região de vasos  
12 sanguíneos, não ocorrendo marcação em formação de nódulos (cirrose hepática). Anti  
13 colágeno I. 100x.



14

15

Fonte: Do autor, 2014.

16

17 A área de colágeno III no período de pré obstrução apresentou média de 6,85%, no  
18 período pós obstrução, esta média aumentou para 12,17% e no período após reconstrução das  
19 vias biliares essa média foi menor (11,70%) que no período pós e maior que no período pré  
20 obstrução. Desta forma, a quantidade de colágeno aumentou após a obstrução das vias biliares  
21 e teve uma diminuição após a reconstrução das mesmas (Figura 16 e 17), com diferença  
22 significativa quando comparado os momentos pré e pós obstrução ( $p= 0,012$ ) e pré obstrução  
23 e reconstrução das vias biliares. Quando comparamos o momento pós obstrução e  
24 reconstrução das vias biliares não houve diferença significativa (Tabela 2).

25

26

27

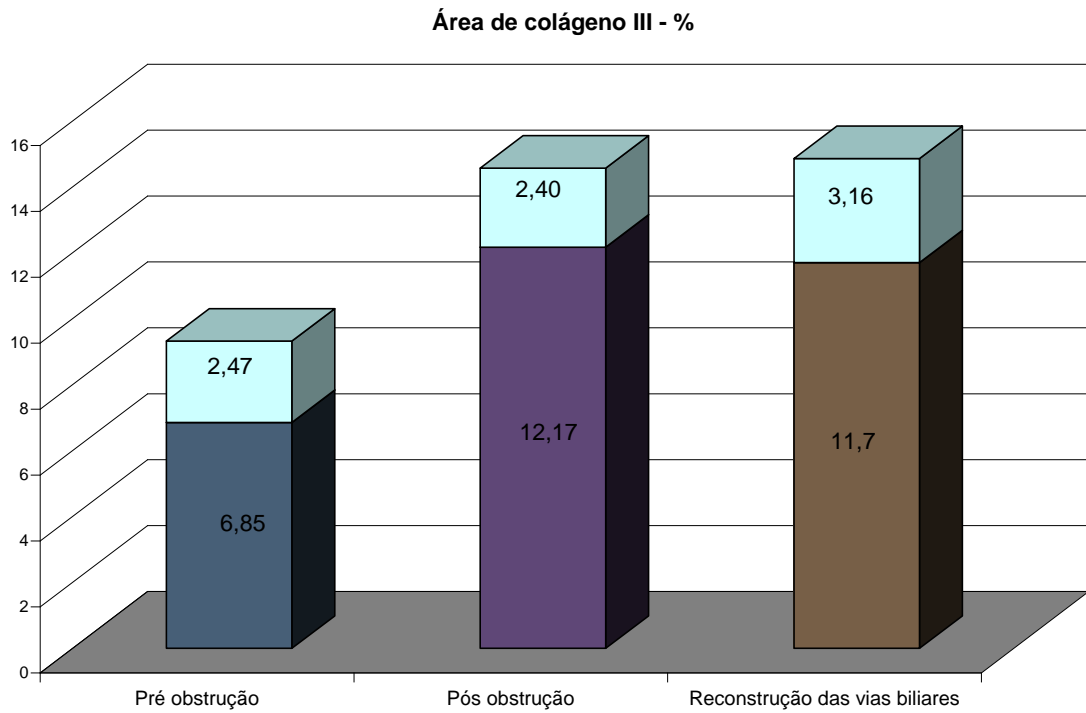
28

29

30

## Resultados

- 1 **Figura 16** –Médias e desvio padrão da área de colágeno III em biópsias hepáticas de  
2 lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares  
3 através da interposição do tubo de Monti em suínos.



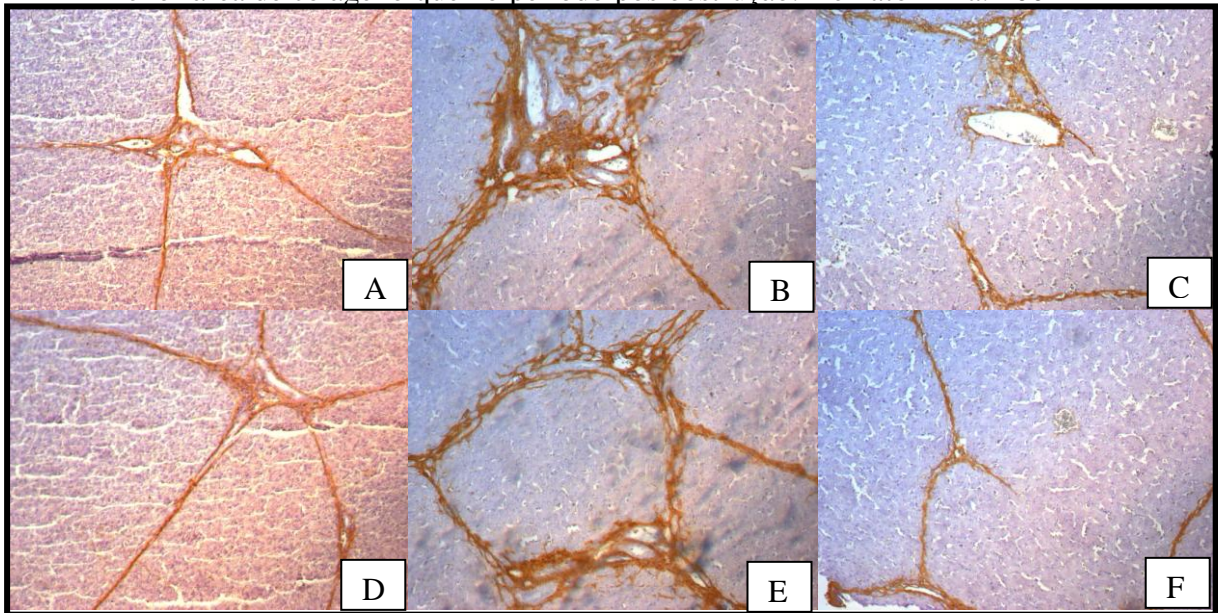
- 4  
5  
6

Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9

**Figura 17-** Imagem microscópica de imunohistoquímica para colágeno III de biópsia hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A sequência de figuras corresponde a biópsias do mesmo animal durante os três períodos. A, B, e C: região de espaço porta. D, E, e F: região de divisão dos lóbulos hepático. A e D: período pré com quantidade de fibras colágenas menor em relação aos demais períodos. B e E: período pós obstrução com aumento da área de colágeno e formação de um novo nódulo. C e F: período após reconstrução das vias biliares com interposição do tubo de Monti com menor área de colágeno que no período pós obstrução. Hematoxilina. 100x



Fonte: Do autor, 2014.

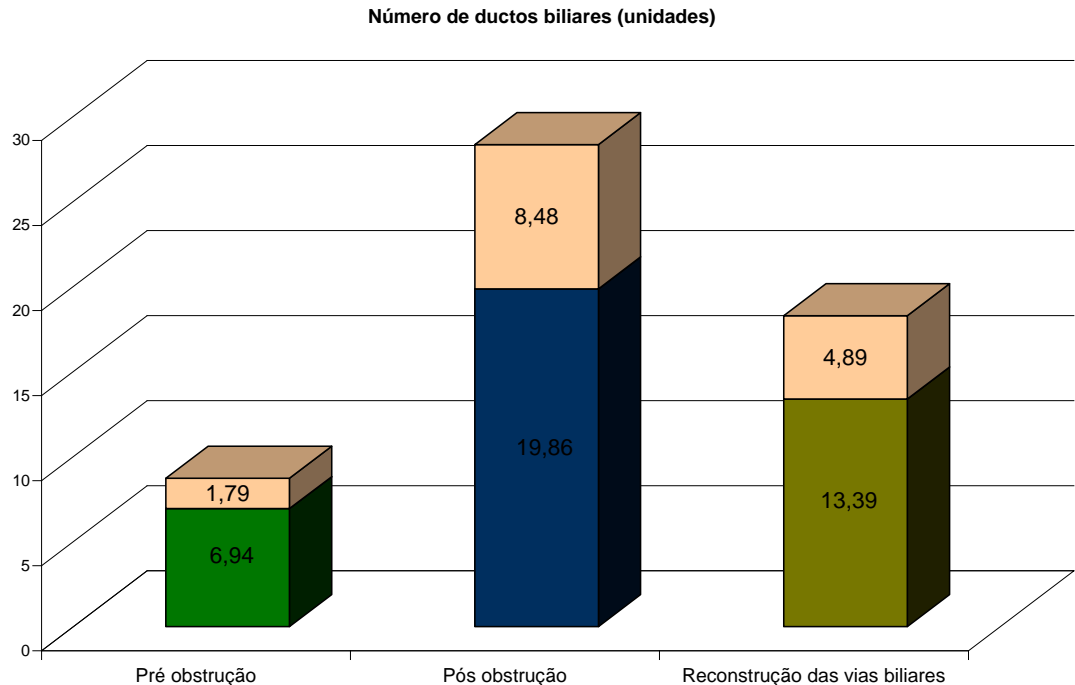
### 6.1.2 Quantificação morfométrica para ductos biliares

14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26

Os ductos biliares apresentaram a menor média (6,94 ductos) durante o período pré obstrução, aumentando durante o período de pós obstrução (19,86 ductos) e no período após a reconstrução das vias biliares este número foi maior que no período pré e menor que no período pós, havendo uma diminuição destes após a normalização do fluxo biliar para o intestino (13,39 ductos) (Figuras 18 e 19), com diferença significativa entre o momento pré e pós obstrução biliar ( $p=0,034$ ) e sem diferença significativa quando comparado os momentos pré e pós reconstrução e pós obstrução e reconstrução das vias biliares (Tabela 2).

## Resultados

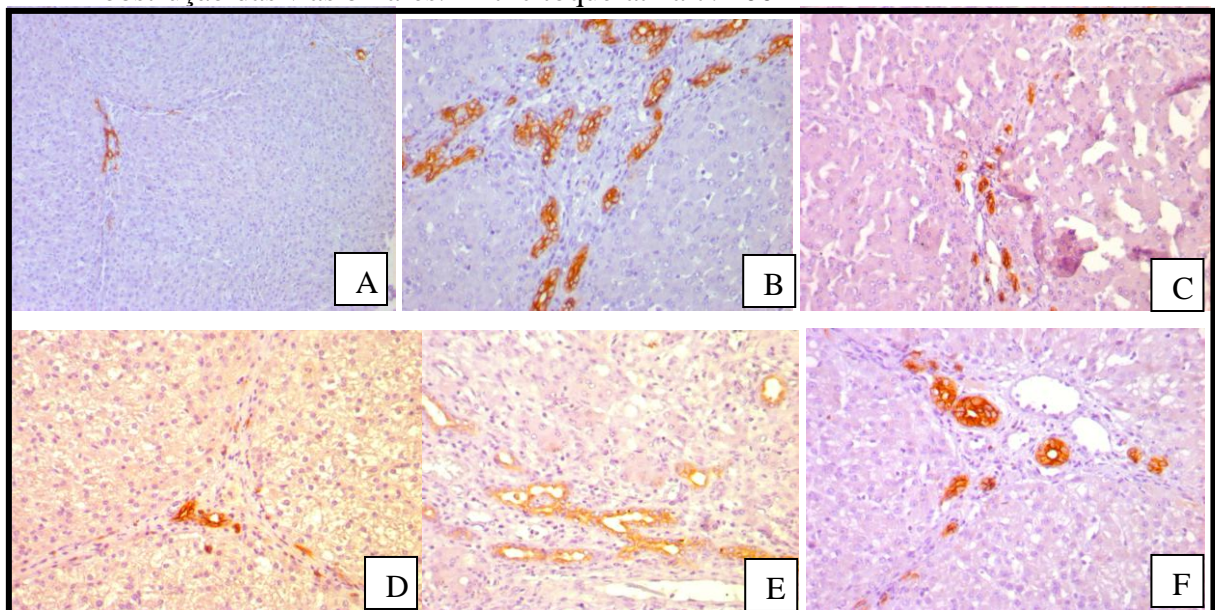
1 **Figura 18** – Médias e desvio padrão do número de ductos biliares em região de espaço  
 2 porta em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e  
 3 após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em  
 4 suínos.



5  
6

Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

7 **Figura 19-** Imagem microscópica de imunohistoquímica (ck7) para ductos biliares de  
 8 biópsia hepática de lobo lateral esquerdo de suínos. A sequência de figuras  
 9 corresponde a biópsias do mesmo animal durante os três períodos. A e D: período pré  
 10 obstrução. B e E: período pós obstrução com aumento do número de ductos. C e F:  
 11 período após reconstrução das vias biliares com interposição do tubo de Monti com  
 12 maior número de ductos que no momento pré e menor número que no período pós  
 13 obstrução das vias biliares. Anti citoqueratina 7. 100x



14

15

16

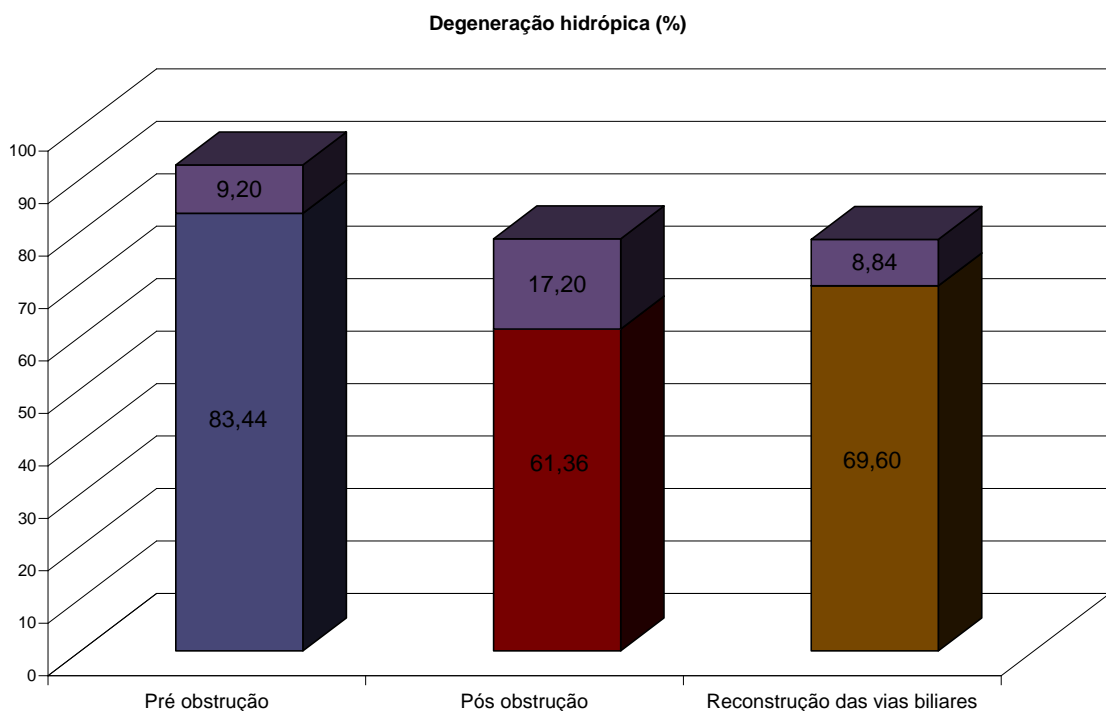
Fonte: Do autor, 2014.

## Resultados

### 6.1.3 Quantificação através da análise da grade de pontos para degeneração hidrópica, esteatose, dilatação e infiltrado inflamatório em sinusóides e presença de hepatócitos reacionais.

A análise da porcentagem de degeneração hidrópica foi maior no período pré obstrução (83,44%), após reconstrução das vias biliares (69,60%) e durante o período pós obstrução (61,36%), havendo diferença significativa durante o período pré e pós obstrução ( $p=0,045$ ) e sem diferença quando comparado os demais períodos (Figura 20 e 24) (Tabela 2).

**Figura 20** – Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com degeneração hidrópica em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.

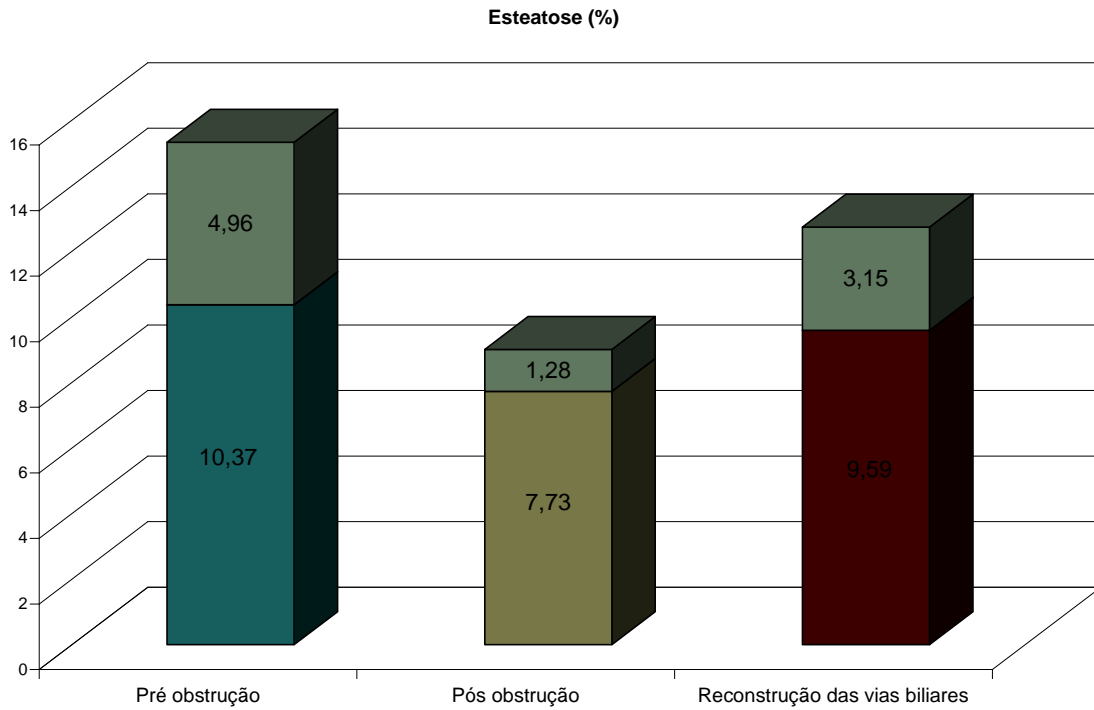


Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

Quando analisada o parâmetro esteatose, esta apresentou uma média menor durante o período de pós obstrução (7,73%), seguido do período após reconstrução (9,59%) e pré obstrução das vias biliares (10,37%), sendo a diferença maior quando comparado o momento pré e pós obstrução das vias biliares (Figura 21), mas sem diferença significativa quando comparado à média dos três momentos ( $p=0,434$ ) (Figura 24) (Tabela 2).

## Resultados

1 **Figura 21** – Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com esteatose em  
 2 biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após  
 3 reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.  
 4



5

6

Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

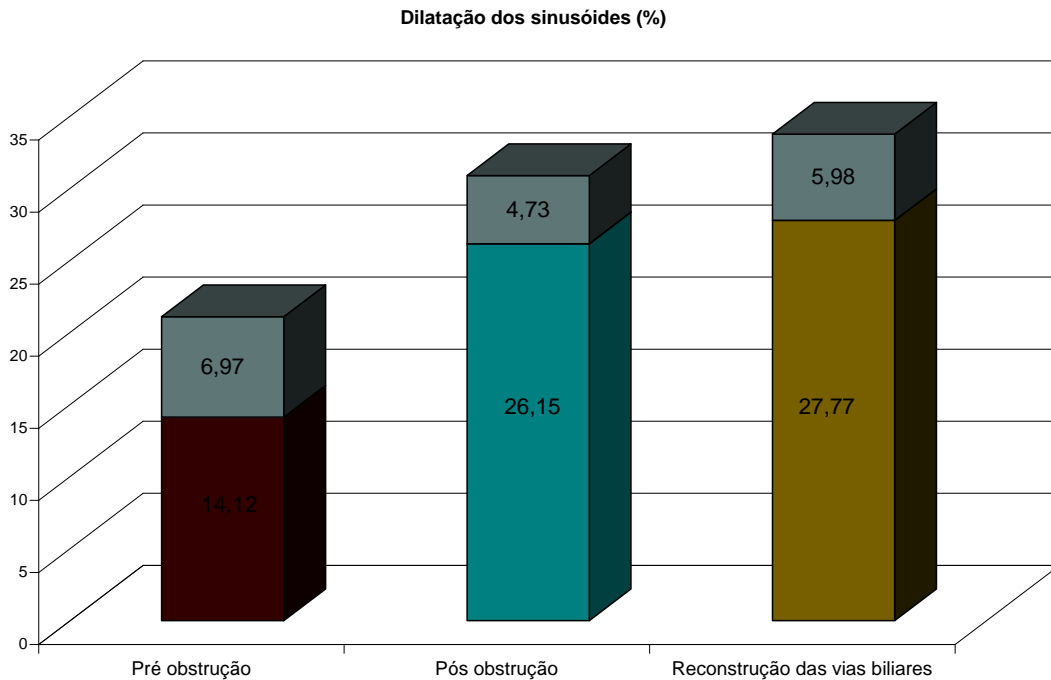
7 A dilatação de sinusóides apresentou diferença significativa quando comparado os  
 8 momentos de pré e pós obstrução e pré obstrução e reconstrução das vias biliares. A dilatação  
 9 apresentou média maior durante o período após reconstrução das vias biliares (27,77%),  
 10 seguido do período pós obstrução (26,15 %) e pré obstrução (14,12%) ( $p=0,001$ ) (Figura 22 e  
 11 24) (Tabela 2).

12 A presença de células inflamatórias (mono e polimorfonucleares) não apresentou  
 13 diferença significativa quando comparado os três momentos, apesar da dilatação dos  
 14 sinusóides. O período pós obstrução e reconstrução das vias biliares apresentou médias  
 15 similares para esta patologia (6,64% e 5,44% respectivamente) e, em menor quantidade  
 16 durante o período pré obstrução (4,99 %) ( $p=0,500$ ) (Figura 23 e 24) (Tabela 2).

17

## Resultados

1 **Figura 22** – Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com dilatação de  
 2 sinusóides em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução  
 3 e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em  
 4 suínos.

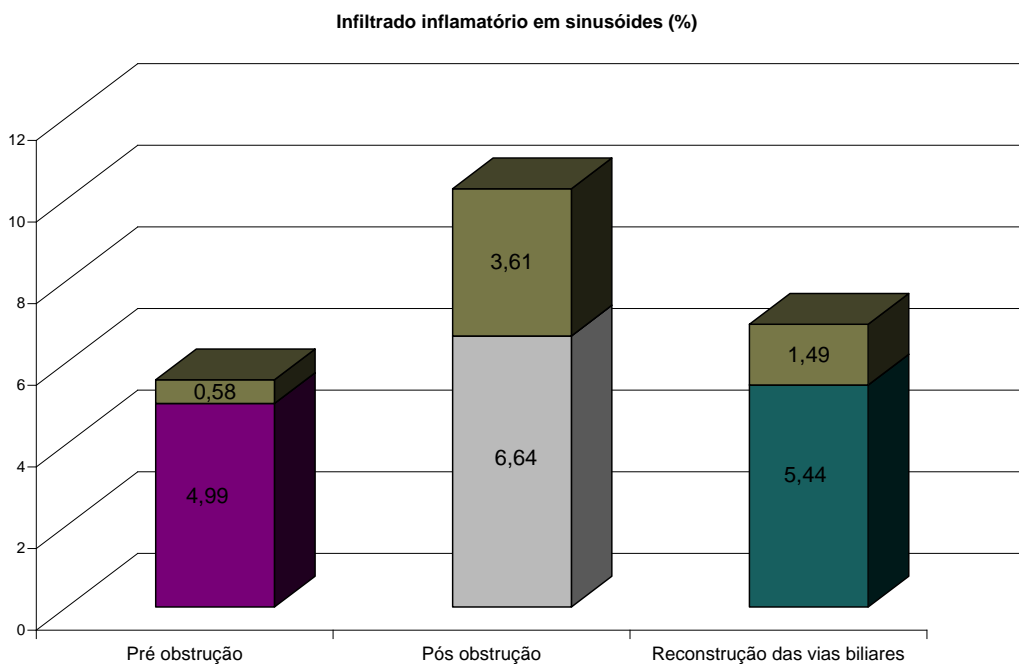


5

6

Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

7 **Figura 23** – Médias e desvio padrão da porcentagem de campos com infiltrado  
 8 inflamatório em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós  
 9 obstrução e após reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de  
 10 Monti em suínos.



11

12

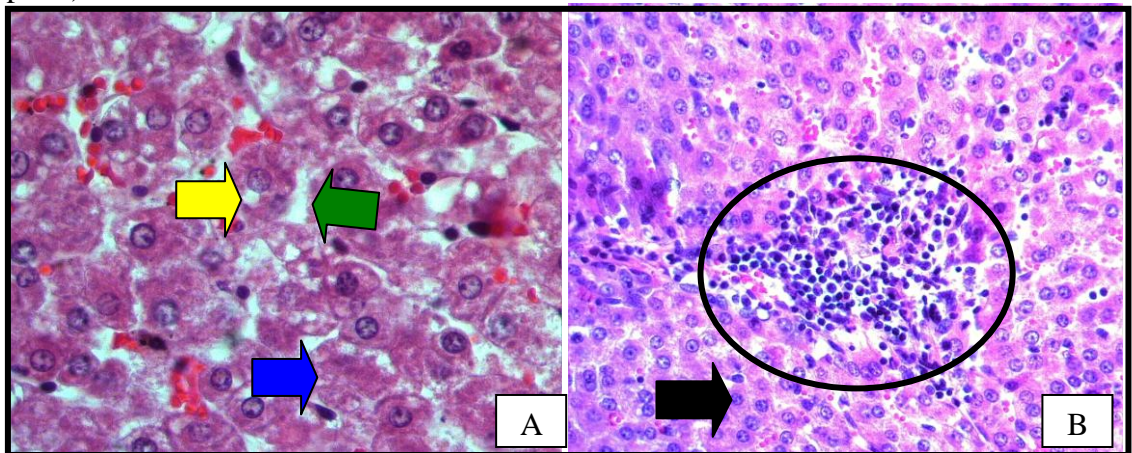
Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.



## Resultados

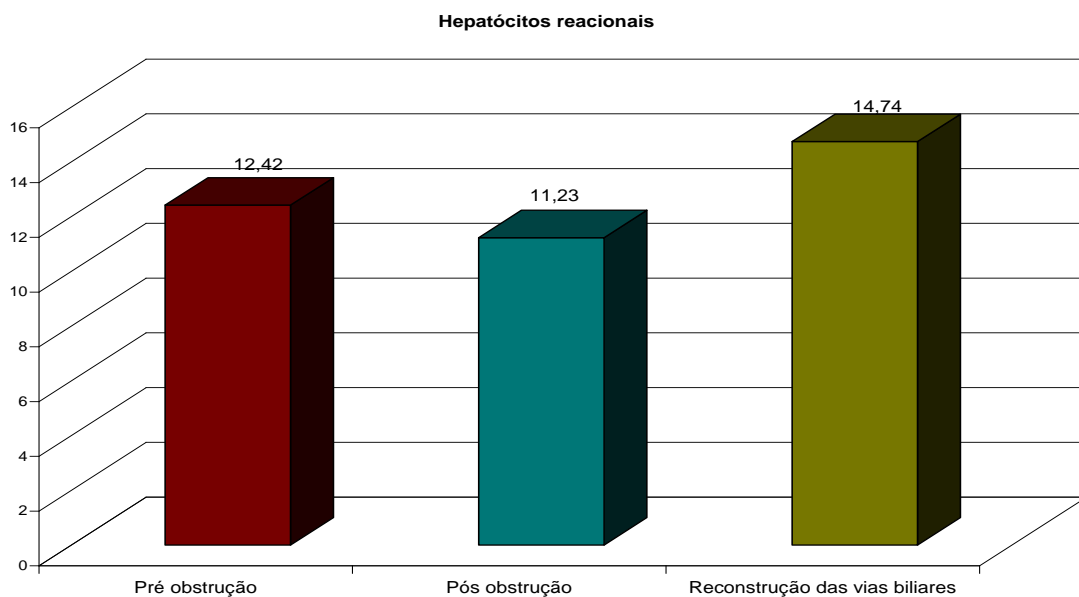
1 A presença de hepatócitos reacionais obteve valores médios próximos durante o  
 2 período pré e pós obstrução (12,42% e 11,23% respectivamente), estando em maior valor  
 3 após reconstrução das vias biliares (14,74%). Houve diferença significativa quando  
 4 comparado o momento pós obstrução e reconstrução das vias biliares ( $p=0,038$ ) (Figura 24 e  
 5 25) (Tabela 2).

6 **Figura 24** - Imagem microscópica de processos patológicos em biópsia hepática de  
 7 lobo lateral esquerdo de suínos. A: visualiza-se citoplasma granuloso evidenciando  
 8 degeneração hidrópica (seta azul), vacúolos opticamente vazios, caracterizando  
 9 esteatose (seta amarela), sinusóides dilatados (seta verde), presença de células  
 10 inflamatórias em sinusóides (círculo) e núcleos de hepatócitos reacionais (seta  
 11 preta).HE. 1250x B: infiltrado inflamatório moderado misto – HE – 620x.



12  
 13 Fonte: Do autor, 2014.

14 **Figura 25** - Valores da média da porcentagem de campos com hepatócitos reacionais  
 15 em biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após  
 16 reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.



17  
 18 Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

## Resultados

1 **Tabela 2** - Valores das análises estatísticas referentes aos parâmetros avaliados em  
 2 biópsias hepáticas de lobo lateral esquerdo durante pré e pós obstrução e após  
 3 reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti em suínos.

Parâmetros	Momentos			Valor de p
	Pré-Obstrução	Pós-Obstrução	Reconstrução	
Área de Colágeno III(%)	6,85 ± 2,47 a	12,17 ± 2,40 b	11,70 ± 3,16 b	0,012
Número de Ductos (un.)	6,94 ± 1,79 a	19,86 ± 8,48 b	13,39 ± 4,89 ab*	0,034
Deg. hidrópica (%)	83,44 ± 9,20 a	61,36 ± 17,20 b	69,60 ± 8,84 ab*	0,045
Esteatose (%)	10,37 ± 4,96	7,73 ± 1,28	9,59 ± 3,15	0,434
Sinusóide dilatado (%)	14,12 ± 6,97 a	26,15 ± 4,73 b	27,77 ± 5,98 b	0,001
Inf. Inflam. sinusóide (%)	4,99 ± 0,58	6,64 ± 3,61	5,44 ± 1,49	0,500
Hepatócito (%)	12,42 ± 1,50 ab*	11,23 ± 1,73 b	14,74 ± 3,08 a	0,038

4 \*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

5 Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

6

### 7 6.1.4 Avaliação dos períodos pré e pós obstrução e reconstrução das vias biliares

8 De uma forma geral, houve um aumento das lesões durante o período pós obstrução  
 9 quando comparado com o momento pré obstrução, apenas processos patológicos reversíveis  
 10 como degeneração hidrópica e esteatose que obtiveram uma diminuição comparando estes  
 11 dois momentos (Tabela 2).

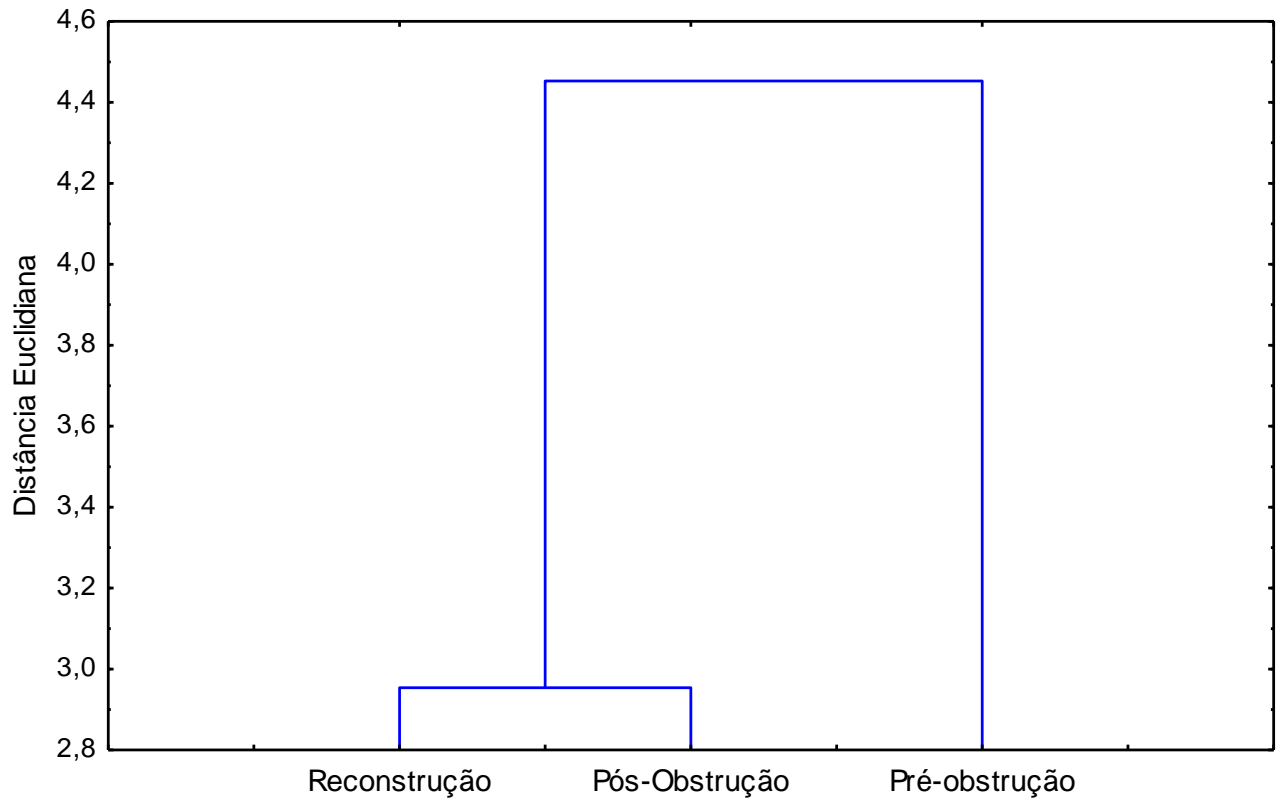
12 Quando comparado os momentos de pós obstrução e reconstrução das vias biliares, os  
 13 processos patológicos aumentaram discretamente após a reconstrução.

14 Na análise estatística multivariada, quando comparadas às médias de todos os  
 15 processos patológicos durante os três momentos, evidencia-se uma aproximação maior dos  
 16 momentos de pós obstrução e reconstrução das vias biliares (Figura 26) do que estes com o  
 17 período pré obstrução. Este mesmo resultado ocorre quando utilizado a análise  
 18 discriminatória (Figura 27). O grupo pré obstrução está totalmente separado dos demais  
 19 grupos, enquanto o momento pós obstrução e reconstrução das vias biliares estão mais  
 20 próximos.

21

## Resultados

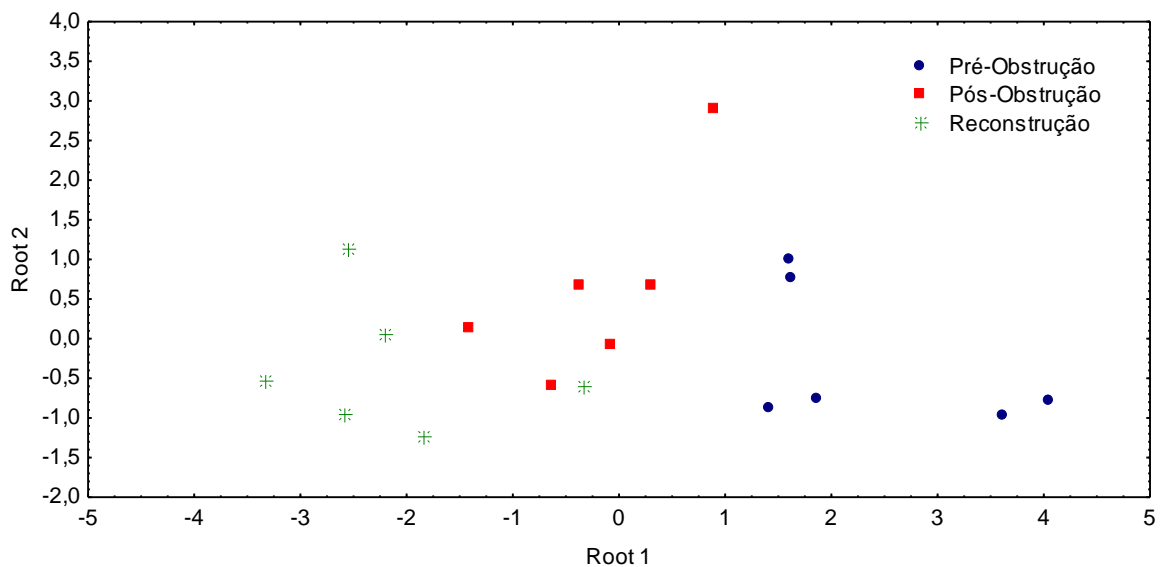
1 **Figura 26** - Análise multivariada das médias de todos os processos patológicos  
 2 comparando os momentos pré, pós obstrução e reconstrução das vias biliares em  
 3 suínos.



4 Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

5  
6  
7  
8  
9  
10  
11

**Figura 27** - Análise discriminatória das médias de todos os processos patológicos  
 comparando os momentos pré, pós obstrução e reconstrução das vias biliares em  
 suínos.



12 Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

13



---

## *Discussão*

## 7 DISCUSSÃO

Neste trabalho, utilizou-se o suíno como animal de modelo experimental e este foi considerado em condições ideais para avaliação dos parâmetros estudados. Além disso, estes apresentam muitas similaridades com os seres humanos como tamanho, estrutura de órgãos internos, padrões alimentares, hábitos dietéticos (onívoros), enzimas gástricas, sistema endócrino, entre outros. Atualmente, são reconhecidos pela sua importância na agropecuária e são considerados como uma espécie apropriada para pesquisas por se tratar de um modelo de animal tratável e controlável (ALMOND, 1996; HELTNE *et al.*, 1998; GOODRECH *et al.*, 2001).

Além disso, nesses animais, a obstrução do ducto biliar comum causa dilatação intrahepática e a reconstrução deste ducto através de enxerto vascular ou através de um fragmento de bexiga urinária é considerado um procedimento seguro e de relevância clínica no tratamento de estenose, tumores benignos e traumas penetrantes, propiciando a drenagem da bile (MORTENSEN *et al.*, 2004; CHRISTENSEN *et al.*, 2005), o que está parcialmente condizente com este trabalho, pois a técnica para restabelecer o fluxo biliar foi diferente, porém o mesmo foi restabelecido e os processos patológicos ocorridos no tecido hepático apresentaram uma diminuição.

A utilização de suínos e ratos como modelos experimentais são comuns em estudos envolvendo técnicas cirúrgicas e representam um bom modelo experimental para icterícia obstrutiva, pois suínos apresentam alterações clínicas, ultrassonográficas, bioquímicas e histopatológicas evidentes em pouco tempo de obstrução (CAMPOS *et al.*, 2013a,b). Daneze *et al.*, (2011) relataram que sete dias após a obstrução biliar induzida são suficientes para que os animais apresentem sinais característicos de icterícia e colestase. Neste estudo, os animais apresentaram sinais clínicos de icterícia, indicando sucesso no procedimento de obstrução induzida das vias biliares.

Segundo Oliveira; Silveira; Matte (2012), os níveis de colágeno presentes em tecido hepático de ratos com obstrução parcial de vias biliares começam a aumentar consideravelmente entre a 10<sup>a</sup> e 16<sup>a</sup> semana de obstrução. Já Quaresma *et al.* (2007), não obtiveram alterações bioquímicas ou histológicas quando utilizados ratos com obstrução biliar de ducto hepático direito por mais de 60 dias. Artifon *et al.* (2010) obtiveram aumentos nos níveis de colágeno a partir do sétimo dia de obstrução, porém esta diferença passou a ser considerável somente a partir do décimo quarto dia de obstrução. Neste trabalho, observa-se

---

*Discussão*

1 que, em suínos, o aumento da quantidade de colágeno se manifesta após 7 dias de obstrução  
2 biliar. Desta forma, os suínos seriam um bom modelo experimental para estudo das vias  
3 biliares por apresentarem uma resposta mais rápida ao estudo.

4 A técnica de interposição com tubo de Monti, utilizada neste estudo, foi proposta para  
5 aumentar a variedade de técnicas cirúrgicas em pacientes com perda do tecido das vias  
6 biliares. A anastomose bilioduodenal e biliojejunal têm se mostrado eficazes para o  
7 tratamento da obstrução biliar, porém as lesões de via biliar habitualmente costumam ser  
8 altas, próximas ao hilo hepático, o que faz com que poucas vezes seja possível a reconstrução  
9 colédoco-duodenal (DUTRA *et al.*, 2007; CREMA *et al.*, 2002). Além disso, a reconstrução  
10 colédoco-duodenal leva a uma maior incidência de câncer de via biliar em longo prazo, em  
11 decorrência do refluxo crônico de suco duodeno-pancreático para o interior da via biliar. Há  
12 de se considerar que muitos pacientes submetidos à reconstrução de via biliar são jovens;  
13 então, essa propensão ainda que pequena de tumor, em longo prazo, deve ser considerada no  
14 momento da realização da derivação colédoco-duodenal (ALMOND, 1996; CREMA *et al.*  
15 2002; ARAÚJO, 2004; CHRISTENSEN *et al.*, 2005; WALSH *et al.*, 2007). Dessa forma,  
16 acredita-se que a técnica proposta neste trabalho seria uma alternativa que evitaria maiores  
17 complicações em longo prazo, pois pode restabelecer o fluxo biliar utilizando tecido do  
18 próprio paciente, diminuindo o processo inflamatório e o risco de rejeição.

19 Pandolfi Júnior *et al.*, (2001), avaliaram várias técnicas cirúrgicas para anastomose e  
20 reconstrução das vias biliares e concluíram que, as derivações com o jejuno, especialmente a  
21 que mantém o fluxo de alimentos mais distantes da via biliar, apresentam melhor desempenho  
22 no reparo morfológico e metabólico do fígado, o que também foi proposto neste estudo.

23 A técnica cirúrgica proposta neste estudo para reconstrução das vias biliares e  
24 restabelecimento do fluxo biliar já vem sendo usado em humanos com sucesso tanto para  
25 drenagem cutânea de bexiga neurogênica, como para reconstrução de ureter. Tal princípio foi  
26 aplicado na confecção de gastrostomias, permitindo ao paciente a sondagem intermitente para  
27 introdução de dieta na gastrostomia, sem vazamentos ao retirar-se a sonda (ARAÚJO, 2004).  
28 Desta forma, acredita-se que a mesma técnica pode ser utilizada para reconstrução de áreas  
29 que necessitem de drenagem de substâncias como bile, urina, entre outros.

30 A quantidade de colágeno I não foi suficiente para ser quantificada, pois mesmo com a  
31 padronização do anticorpo afirmando sua eficácia, este não apresentou marcações evidentes  
32 nas amostras do presente estudo. A quantidade de colágeno III reagente ao anticorpo foi  
33 suficiente para análise morfométrica e amostragem. De acordo com Poonkhum *et al.*, (2011),

---

*Discussão*

1 o colágeno I está presente nas margens dos septos hepáticos, em torno dos sinusóides e espaço  
2 porta e veias centro lobulares e o colágeno III se localiza em torno das paredes dos vasos,  
3 nódulos hepáticos e na parte interior dos nódulos, região onde ocorre maior concentração de  
4 cirrose, sendo a localização do colágeno III condizente com o presente estudo. Além disso, o  
5 aumento da quantidade de colágeno no momento pós obstrução pode indicar o início do  
6 processo de deposição nodular de colágeno, caracterizando cirrose recente após a obstrução  
7 das vias biliares.

8 Alguns animais evoluíram para um quadro de coleperitônio durante o período após  
9 reconstrução das vias biliares, antecedentes aos 45 dias da realização da eutanásia. De acordo  
10 com Biondo-Simões (2001), a presença de peritonite bacteriana, através da liberação de  
11 enzimas pode diminuir a concentração e maturação do colágeno. Desta forma, acredita-se que  
12 além da idade dos animais, a resposta inflamatória ao procedimento cirúrgico, o tempo curto  
13 de obstrução e o óbito dos animais, podem ter influenciado na ausência ou baixa quantidade  
14 de colágeno I. Suponha-se que se todos os animais tivessem a coleta realizada no mesmo  
15 período de reconstrução das vias biliares, a quantidade de colágeno III poderia diminuir ainda  
16 mais e que a quantidade de colágeno I poderia aumentar se o período de coleta para avaliação  
17 fosse superior ao realizado neste estudo.

18 A maioria dos trabalhos relacionados à presença de colágeno/cirrose no tecido  
19 hepático utiliza apenas a técnica de morfometria com colorações que evidenciam o colágeno,  
20 porém não os diferencia em tipo I e III, o que pode dificultar a interpretação de alguns  
21 resultados envolvendo a etiopatogenia deste processo patológico. Segundo Meyer *et al.*,  
22 (2007), técnicas de coloração com Picro-Sirius que utilizam a luz polarizada dificulta a  
23 diferenciação entre colágeno I e III e deixa parte dos resultados subjetivos.

24 O presente estudo apresentou aumento significativo apenas da quantidade de colágeno  
25 III, que é considerado o primeiro tipo de colágeno a participar da etiopatogenia da cirrose  
26 hepática, pois é o que se forma precocemente nos processos de cicatrização e cirrose primária  
27 (FACHINELLI, 2005). Além disso, este é o colágeno mais evidente em animais jovens  
28 (CALVI *et al.*, 2011), como o representado pelo presente estudo.

29 Bakhru *et al.*, (2011), após reconstituir o fluxo biliar através da colocação de *stents* em  
30 suínos, no período pré obstrução, obteve dilatação dos ductos biliares e espessamento das  
31 fibras colágenas presentes, que diminuíram discretamente com o novo fluxo biliar, o que  
32 também obteve-se como resultado neste presente estudo. Desta forma, a colocação de *stents* e  
33 a interposição do tubo de Monti, são eficazes para restabelecer o fluxo biliar e diminuir o

---

*Discussão*

1 processo de deposição de colágeno e cirrose hepática, já que através da normalização do fluxo  
2 biliar, as alterações hepáticas que podem induzir a necrose dos hepatócitos e evoluir para  
3 cirrose diminuem.

4 O estudo das alterações histológicas ocorridas no tecido hepático após o início do  
5 processo de cirrose é de extrema importância, pois esta pode evoluir hipertensão portal,  
6 insuficiência hepatocelular, carcinoma hepático, entre outros (ILDA *et al.*, 2005). A técnica  
7 de interposição do tubo de Monti proposta neste estudo já obteve resultados satisfatórios na  
8 reconstrução de ureteres (MONTI; DUTRA; CARVALHO, 1997) e, através dos resultados  
9 obtidos em suínos condiciona diminuição de processos patológicos mais graves como o  
10 aumento da área de colágeno e a proliferação de ductos biliares.

11 O número de ductos biliares aumentou durante o período de obstrução das vias  
12 biliares, sugerindo uma resposta hiperplásica do tecido na tentativa de drenar a bile que estava  
13 em índices elevados devido à obstrução do ducto colédoco. Para Zhu *et al.* (2012), o aumento  
14 do número de ductos ocorre, quando se mantém preservada a irrigação do tecido, pois com o  
15 comprometimento da circulação hepática e posterior isquemia do tecido, ocorre morte de  
16 células e, conseqüentemente, uma diminuição do número de hepatócitos e ductos biliares.  
17 Neste estudo, a irrigação do tecido hepático se manteve preservada, com resposta do aumento  
18 do número de ductos no período de pós obstrução e uma diminuição após a reconstrução das  
19 vias biliares que restabeleceu o fluxo biliar, sugerindo neste caso, que a técnica de  
20 interposição do tubo de Monti, pode ser eficiente no controle desta alteração.

21 Jorge *et al.* (2001), na tentativa de induzir cirrose biliar secundária em ratos wistar,  
22 obteve um aumento do número de ductos biliares em biópsias de tecido hepático com  
23 obstrução, o que também ocorreu no presente estudo.

24 Prado *et al.*, (2003), utilizando camundongos analisaram alterações hepáticas  
25 decorrentes de obstrução biliar e todos os animais apresentaram icterícia no peritônio parietal  
26 e visceral, dilatação acentuada da vesícula biliar e do ducto biliar comum. Em seus achados  
27 histopatológicos encontrou dilatação e proliferação de ductos biliares com acentuada  
28 deposição de colágeno, áreas frequentes de necrose isquêmica e colangite purulenta,  
29 sugerindo que na colestase, a isquemia hepática funcional desempenha um papel importante  
30 na indução de lesões hepáticas, e que o processo infeccioso é um fator importante na  
31 morbidade e mortalidade. Neste estudo, não ocorreu a presença de colangite purulenta e  
32 isquemia, mas as demais alterações também foram evidentes. Acredita-se que a dilatação dos  
33 sinusóides esteja relacionada com o momento de maior fluxo sanguíneo na região hepática

---

*Discussão*

1 devido a um processo inflamatório e reacional devido ao aumento dos níveis de bilirrubina  
2 circulante e após a reconstrução das vias biliares como resposta inflamatória à cicatrização do  
3 procedimento cirúrgico de interposição do tubo de Monti. A presença de células inflamatórias  
4 após a obstrução biliar, pode ser justificada pela resposta imunológica do organismo, devido a  
5 diversas alterações morfofisiológicas ocorridas no tecido hepático.

6 O aumento da degeneração hidrópica e esteatose pode estar relacionado com a troca de  
7 alimentação nos animais e com a medicação pré anestésica, anestésica e o tempo de demora  
8 para a realização do procedimento cirúrgico e a coleta do fragmento para a biópsia hepática.  
9 De acordo com Brasileiro Filho (2011), medicamentos que são metabolizados no fígado,  
10 causam alterações reversíveis, provocando acúmulo de substâncias no citoplasma das células  
11 como água e triacilglicerol.

12 Silva *et al.* (2007), avaliando os processos patológicos encontrados associados com  
13 cirrose hepática em cães, encontraram alterações como esteatose, infiltrado inflamatório e  
14 proliferação dos ductos biliares. De acordo também com Stevens;Lowe (2002), após o dano  
15 hepático, é possível identificar vários padrões de anormalidades histológicas, que resultam de  
16 um conjunto limitado de respostas patológicas ao dano, podendo haver degeneração  
17 hidrópica, esteatose, colestase, necrose hepatocelular, fibrose, hiperemia, hemorragia ou  
18 acúmulo de material anômalo. Além dos processos condizentes com os referidos autores,  
19 neste estudo, visualizou-se alterações como degeneração hidrópica, sinusóides dilatados e  
20 hepatócitos reacionais, que na sua maioria, diminuíram a intensidade após a realização da  
21 reconstrução das vias biliares através da interposição do tubo de Monti. Portanto, através da  
22 análise dos dados multivariados, acredita-se que o momento pré obstrução seria o que  
23 apresenta maior diferença de dados e que os momentos pós obstrução e reconstrução das vias  
24 biliares apresentam dados estatísticos mais próximos, ressaltando que se comparou o mesmo  
25 animal durante os três períodos, sendo considerado como momento controle o momento pré e  
26 que existe uma variação entre um animal e outro. Mesmo assim, a maioria dos processos  
27 patológicos diminuíram após a reconstrução das vias biliares pela interposição do tubo de  
28 Monti.

---

## *Conclusões*

**1 8 CONCLUSÕES**

2

3 De acordo com as condições que o experimento foi realizado, podemos  
4 concluir que:

5 - A interposição do tubo de Monti é capaz de restabelecer o fluxo biliar,  
6 interrompendo a maioria dos processos patológicos encontrados, sendo uma opção para  
7 pacientes com perda/lesão das vias biliares, porém, novos estudos experimentais se fazem  
8 necessários para estabelecer detalhes da técnica.

9 - O colágeno tipo I não apresentou quantidade suficiente para análise  
10 imunohistoquímica e morfométrica, demonstrando não participar ativamente do processo  
11 inicial de cirrose nestes animais.

12 - O colágeno tipo III aumentou durante o período pós obstrução, diminuindo após  
13 reconstrução das vias biliares, estando relacionado ao processo de cirrose hepática.

14 - A quantidade de ductos biliares aumentou significativamente no período de  
15 obstrução das vias biliares, diminuindo assim que o fluxo biliar foi restabelecido.

16 - Outros processos patológicos como degeneração hidrópica, dilatação de sinusóides e  
17 hepatócitos reacionais estão presentes em animais com obstrução das vias biliares.

18



---

## *Referências*

## REFERÊNCIAS

AHRENDT, A.S.; PITT, H.A. Surgical therapy of iatrogenic lesions of biliary tract. **World Journal of Surgery**, v. 25, n.10, p.1360-65, 2001.

ALMOND, G.W. Research applications using pigs. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.12, n.3, p.:707-16, 1996.

ARAÚJO, L.A.O. Utilização do princípio de Monti para construção de uma gastrotomia consistente. Recife/PE. Tese (Doutorado). 2004.

ARCHER, S. B. et al. Bile duct injury during laparoscopic cholecystectomy: results of a national survey. **Annals of Surgery**, v.234, n.4, p. 549-558 (discussion 558-559), 2001.

ARTIFON, E. L. A.; LOPASSO, F. P.; MOURA, G. B.; HERBELLA, F. A.; FERNANDES, F. A. M.; SAKAI, P.; CARRILHO, F. J.; CALDINI, E. T. E. G.; SILVA JÚNIOR, O. C. S. Effects of plastic stenting in common bile duct of rats. A quantitative reaction analysis using collagen and elastin morphometry. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v.25, n. 2, 2010.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41 n.1, 2005.

BAKHURU, M. R.; FOLEY, P. L.; GATESMAN, J.; SCHMITT, J.; MOSKALUK, C. A.; KAHALEH, M. Fully covered self-expanding metal stents placed temporarily in the bile duct: safety profile and histologic classification in a porcine model. **Bio MedcCentral Gastroenterology**. V.11, n. 76, 2011.

BARNETT, J.L.; APPELMAN, H.D.; MOSELEY, R.H. A familial form of incomplete septal cirrhosis. **Gastroenterology**. v. 102, p. 674-678, 1992;

BIONDO-SIMÕES M.L.; GRECA, F.G; BRYK JUNIOR, A.; KOMATSU, M.C.G.; BITTENCOURT, F.O.; GRECA, L.M. Influência da peritonite sobre a síntese de colágeno em anastomoses do cólon distal: estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 15, n. 3, 2001.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo. Patologia**. 8 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2011. 1475p.

CALVI, E. N. C.; NAHAS, F. X.; BARBOSA, M. V. J. B.; IHARA, S. M.; CALIL, J. A.; FERREIRA, L. M. Immunohistochemical analysis of collagen content and types in the rectus abdominis muscle of cadavers of different ages. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 26, n. 2, 2011.

CAMPOS, A. G. Alterações hepáticas decorrentes de obstrução biliar induzida em suínos (*Sus scrofa*). Uberaba/MG. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. 2010.

CAMPOS, A. G.; DANEZE, E. R.; TERRA JÚNIOR, J. A.; BARBOSA, A. B. R.; SLIUZAS, G. R. S.; SILVA, A. A.; TERRA, S. A. Estudo ultrassonográfico e morfométrico do fígado e trato biliar de suínos submetidos à obstrução biliar experimental. **Radiologia Brasileira**, v. 46, n. 2, p. 89-95, 2013.

CAMPOS, A. G.; DANEZE, E. R.; TERRA JÚNIOR, J. A.; CHICOTE, S. R. M.; CÔRREA, R. R. M.; SILVA, A. A.; TERRA, S. A. Análise hematológica e bioquímica comparativa em suínos submetidos à obstrução biliar experimental. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 4, p. 592-603, 2013.

CARLTON, W.; MCGAVIN. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2ª ed. ArtMed, Porto Alegre, Brasil, 95p. 1998.

CARREL, T.; LERUT, J.; NIEDERHAUSER, U.; SCHWEIZER, W.; BLUMGART, L. H. Diagnosis and treatment of traumatic injuries of the duodenum and pancreas: 21 cases. **Journal of Chirurgic**, v. 127, n. 10, p. 438-444, 1990.

CHRISTENSEN, M.; LAURSEN, H.B.; ROKKJAER, M.; JENSEN, P.F.; YASUDA, Y.; MORTENSEN, F.V. Reconstruction of the common bile duct by a vascular prosthetic graft: an experimental study in pigs. **Journal Hepatobiliary and Pancreatic Surgery**, v.12, n.3, p.231-234, 2005.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. **Robbins pathologic basis of disease**. 7. ed. Philadelphia: W.B. Elsevier, 2005, 1504p.

CREMA, E.; SILVA, A.A.; LENZA, R.M.; OLIVEIRA, C.B.; BRIDI, V.A.U.; MARTINS JUNIOR, A. Excluded-loop hepatojejunal anastomosis with use of laparoscopic in late management of iatrogenic ligature of the bile duct. **Surgical Laparotomy Endoscopic & Percutaneous Techonology**, v. 12, n.2, p. 110-114, 2002.

DANEZE, E. R.; TERRA, G. A.; TERRA JUNIOR, J. A.; CAMPOS, A. G.; SILVA, A. A.; TERRA, S. A. Comparative study between ligature with thread or metallic clamping by means of laparoscopy with the purpose of experimental biliary obstruction in swines. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.26, n. 1, p. 31-37, 2011.

DIELGEMANN, R. F. Collagen Metabolism. **Wounds: Health Menagement Publications**, v. 13, n. 5, 2001.

DUTRA, R.A.; SANTOS, J.S.; ARAÚJO, W.M.; SIMÕES, M.V.; PAIXÃO-BECKER, A.N.; NEDER, L. Evaluation of Hepatobiliary Excretion and Enterobiliary Reflux in Rats with Biliary Obstruction Submitted to Bilioduodenal or Biliojejunal Anastomosis. **Digestive Disease Science**, n.13, 2007.

FACHINELLI, A. Avaliação qualitativa e quantitativa do colágeno total, tipo I e III da linha alba em pacientes portadores de hérnia da parede abdominal anterior. Porto Alegre/RS **Dissertação (Mestrado)**. 2005.

GAYOTTO, L.C.C.; ALVES, V. A. F. **Doenças do fígado e vias biliares**. São Paulo:Atheneu, v. 1, cap. 15, p. 175-177, 2001.

GELLER, A.S.; PITMAN, M.B. Morphological procedures (liver biopsy). **In:** Mac Sween NH et al. Pathology of the liver – 4th ed. Edinburgh Churchill Livingstone. p. 943-960.2002.

GETTY, Robert. Anatomia dos animais domésticos. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2000p.

GOODRICH, J.A.; LACKLAND, D.T.; DEL SIGNORE, M.J.; SWINDLE, M.M. Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation. **Comparative Medicine**, v. 51, n.1, p.13-5, 2001.

HELTNE, J.K.; HUSBY, P.; KOLLER, M.E.; LUND, T. Sampling of interstitial fluid and measurement of colloid osmotic pressure (COPi) in pigs: evaluation of the wick method. **Laboratory Animals**. v.32, n.4, p.439-45, 1998.

HUNT, D. R. Changes in liver blood flow with development of biliary obstruction in the rat. **The Australian and New Zealand Journal of Surgery**, v. 49, n. 6, p. 733 – 737, 1979.

ILDA, V. H.; SILVA, T. J. A.; SILVA, A. S. F.; SILVA, L. F. S.; ALVES, V. A. F. Cirrose hepática: aspectos morfológicos relacionados às suas possíveis complicações. Um estudo centrado em necropsias. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 41, n. 1, p. 29-36, 2005.

JORGE, G. L.; LEONARDI, L. S.; BOIN, I. F. S. F.; SILVA, O. C.; ESCANHOELA, C. A. F. A new method for the experimental induction of secondary biliary cirrhosis in Wistar rats. **Acta Cirurgica Brasileira**. v. 16, n. 2, 2001.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. ed. 12, cap. 16, Guanabara Koogan. p.272-286, 2013.

LAL, R.; AGARWAL, S.; SHIVHARE, R.; KUMAR, A.; SIKORA, S.S.; KAPOOR, V.K.; SAXENA, R. Management of complicated choledochal cysts. **Digestive Surgery**., v.24, n.6, p.456-62, 2007.

LEFKOWITCH, J.H. Special stains in diagnostic liver pathology. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v.23, p.190-198, 2006.

MD SAÚDE. **Doenças do fígado**. Disponível em: [www.mdsaude.com/category/gastroenterologia-2/hepatologia-gastroenterologia-2](http://www.mdsaude.com/category/gastroenterologia-2/hepatologia-gastroenterologia-2). Acesso em: 15 nov. 2009 às 14:13.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório Veterinária. Interpretação e Diagnóstico**. 1.ed.São Paulo:Roca,1995, p.308.

MEYER, A. L. M.; BERGER, E.; MONTEIRO JÚNIOR, O.; ALONSO, P. A.; STAVALE, J. N.; GONÇALVES, M. P. S. Quantitative and qualitative analysis of collagen types in the fascia transversals of inguinal hernia patients. **Arquivo Gastroenterologia**. v. 44, n. 3, 2007.

MONTEIRO, G. B. M. **Introdução ao Estudo da Biópsia Hepática**. UNIRIO, 2009.

MORTENSEN, F.V.; ISHIBASHI, T; HOJO, N.; YASUDA, Y.; A gallbladder flap for reconstruction of the common bile duct. An experimental study on pigs. **Journal Hepatobiliary and Pancreatic Surgery**, v.11, n.2, p.112-5, 2004.

MONTI, P.R.; LARA, R.C.; DUTRA M.A.; CARVALHO, J.R. New techniques for construction of efferent conduits based on the mitrofanoff principle. **Urology**, v.49, n.1, p. 112-115, 1997.

MONTI, P.R.; CARVALHO, J.R.; ARAP, S. The Monti procedure applications and complications. **Urology**; v.55, n.5, p. 616-621, 2000.

OLIVEIRA, F.S; SILVEIRA, T.R.; MATTE, U. Relationship between serum transforming growth factor  $\beta$ 1 and liver collagen content in rats treated with carbon tetrachloride. **Arquivo Gastroenterologia**. v. 49, n. 3, 2012.

ORREGO, H; BLAKE, J.E.; BLENDIS, L.M.; MEDLINE, A. Prognosis of alcoholic cirrhosis in the presence and absence of alcoholic hepatitis. **Gastroenterology**. v. 92, p. 208-214, 1987.

PANDOLFI JÚNIOR, H.; SANTOS, J. S.; ZUCOLOTO, S.; RAMALHO, L. N. Z.; CASTRO E SILVA JÚNIOR, O.; CENEVIVA, R. Evolução da fibrose biliar secundária em ratos tratados mediante derivação bílio-duodenal ou bílio-jejunal com alça de Roux medindo 5, 10 e 15 cm. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 16, n.1, 2001.

PARDINI LABORATÓRIO. **Imunohistoquímica**. Disponível em: <<http://www.hermespardini.com.br/>>. Acesso em: 04 de set. 2010 às 11:26.

PATHOLOGIKA. **Imunohistoquímica**. Disponível em: <<http://www.pathologika.com/imunohistoquimica/>>. Acesso em: 25 ago. 14 às 13:04.

POONKHUM, R.; PRADIDARCHEEP, W.; NILBU-NGA, S.; CHAUNCHAIYAKUL, S. Distribution of hepatic myofibroblasts and type I and III collagen in rat liver cirrhosis induced by thioacetamide. **International Journal Morphology**. v. 29, n.2, 2011.

PRADO, I.B.; DOS SANTOS, M.H.; LOPASSO, F.P.; IRIYA, K.; LAUDANNA, A.A. Cholestasis in a murine experimental model: lesions include hepatocyte ischemic necrosis. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**.v.58, n.1, p. 27-32, 2003.

QIAN, Z.; MAYNAR, M.; USÓN-GARALLO, J.; SANCHEZ-MARGALLO, F.; LIMA-RODRIGUEZ, M.A.; LIMA-RODRIGUES, J.R.; KIM,J.K.; GONZALEZ-ROMAN, A.; CASTAÑEDA, W.R. Animal model of bile duct dilatation created with minimally invasive surgery. **Academy Radiologic**, v.6, n.5, p.317-20, 1999.

QUARESMA, A. B.; D'ACAMPORA, A. J.; TRAMONTE, R.; FARIAS. D. C.; JOLY, F. S. Histological study of the liver and biochemistry of the blood of Wistar rats following ligation of right hepatic duct. **Acta Cirurgica Brasileira**. v. 22, n. 1, 2007.

RAUWS, E.A.; GOUMA, D.J. Endoscopic and surgical management of bile duct injury after laparoscopic cholecystectomy. **Best Practice e Research Clinical Gastroenterology**, v.18,

n.5, p. 829-846, 2004.

REECE, William O. Reece. Dukes **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 856.

SCHEUER, P.J.; LEFKOWITCH, J.H. Laboratory techniques in liver biopsy interpretation. In: Scheuer PJ, Lefkowitz JH. **Liver biopsy interpretation** 7th ed. Edinburgh Elsevier; p. 13-20. 2006.

SCHMIDT, S.C.; LANGREHR, J.M.; SCHUMACHER, G.; NEUHAUS, P. Treatment of iatrogenic bile duct lesions from laparoscopic cholecystectomy. **Rozhl. Chirurgie**. v. 84, n.11, p.567-572, 2005.

SEKIDO, H. *et al.* Surgical strategy for the management of biliary injury in laparoscopic cholecystectomy. **Hepatogastroenterology**, v.51, n.56, p. 357-361, 2004.

SILVA, M. C.; FIGHERA, R. A.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Cirrose hepática em cães: 80 casos (1965-2003). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, n. 11, 2007.

STALKER M. J.; HAYES, M. A.. Liver and biliary system. **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, v. 2. p. 297-388, 2007.

STEINER, D.; HENNING, R.; LIERSE, W. Bioconstruction of the extrahepatic biliary duct system in minipigs. Comparing normal condition with experimental obstruction. **Rozhl Chirurgie**, v.86, n.7, p. 370-5, 2007.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Patologia**. 2 ed. São Paulo. Manole, 2002.

TAKAHASHI, T. Three-dimensional morphology of the liver in cirrhosis. **Virchows Archive**. v. 377, p. 97-110, 1978.

TORRES, O. J. M.; BARBOSA, E. S.; PANTOJA, P. B. Prevalência ultrassonográfica de litíase biliar em pacientes ambulatoriais. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.32, n.91, p. 47-49, 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO GRANDE DOURADOS. Atlas de Histologia. disponível em: <[http://histologiaufgd.blogspot.com.br/2010\\_05\\_21\\_archive.html](http://histologiaufgd.blogspot.com.br/2010_05_21_archive.html)>. Acesso em: 25 de ago. 2014 às 11:32.

VAN, D.G.; KENT, M. **Anatomia humana**. 6.ed. Barueri: Manole, 2003. 840p.

VISOKAI, V.; LIPSKÁ, L.; ZÁRUBA, P.; ROTNÁGL, J. Surgical management of intrahepatic cholelithiasis--two case reviews **Acta Anatomica (Basel)**, v. 136, n. 2, p. 159-64, 2007.

WALSH, R.M.; HENDERSON, J.M.; VOGT, D.P.; BROWN, N. Long-term outcome of biliary reconstruction for bile duct injuries from laparoscopic cholecystectomies. **Surgery**, v.142, n. 4, p. 450-6; discussion 456-7, 2007.

WANDERSON, D. **Cirrose – Patologia**. Disponível em: <<http://www.digimed.ufc.br/wiki/index.php/Cirrose>>. Acesso em: 06 nov. de 2010 às 12:59.

ZHU, X; PAN. J.; WU, Y.; DING, Y. Effects of warm ischemia time on biliary injury in rat liver Transplantation. **World Journal Gastroenterology**. v. 18. n. 43, 2012.

ZIMMERMANN, A. Consequences of cholestasis from the pathologist's viewpoint. **Schweiz Med Wochenschr.** v.127, n.19, p.812-20, 1997.

ANEXOS