

## Adaptação do modelo experimental de colestase extra-hepática em ratos jovens<sup>1</sup>

Ana Paula Ronquesel Battochio<sup>2</sup>, Adriane Gasparino dos Santos<sup>3</sup>, Cynthia R. Matos Silva<sup>4</sup>,  
Analícia S. Rocha<sup>5</sup>, Cláudio A. R. Coelho<sup>6</sup>

Battochio APR, Santos AG, Silva CRM, Rocha AS, Coelho CAR. Adaptação do modelo experimental de colestase extra-hepática em ratos jovens. *Acta Cir Bras* [serial online] 2004 Jan-Fev;19(1). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

**RESUMO** – Os autores descrevem a adaptação da técnica de ligadura e ressecção do ducto biliar comum descrita na literatura, enfatizando suas vantagens na recuperação pós-cirúrgica. Este trabalho foi realizado no Laboratório Experimental do Departamento de Pediatria da FMB-UNESP.

**DESCRIPTORIOS** - Colestase. Cirurgia experimental. Ligadura e ressecção do ducto biliar comum.

### Introdução

A colestase, caracterizada pela diminuição ou ausência do fluxo biliar, ou de algum de seus componentes, é a condição hepatobiliar mais comum no período neonatal e nos primeiros meses de vida. A deficiência da secreção de sais biliares resulta em má absorção de lipídios e vitaminas lipossolúveis<sup>1,2</sup>. O grande interesse no estudo de doenças colestáticas ocorre devido aos altos índices de mortalidade. Algumas doenças colestáticas, como a atresia de vias biliares, apresentam 100% de mortalidade quando não tratada e é a principal indicação de transplante hepático na infância<sup>3</sup>. Com base nesses princípios, modelos experimentais em animais de laboratório que simulam colestase humana têm sido muito úteis na elucidação de diferentes etapas da patogênese da colestase<sup>4</sup>. Várias técnicas para o desenvolvimento de colestase tem sido descritas, sobretudo em ratos, baseadas em: 1) obstrução aguda e completa do ducto biliar comum<sup>5</sup>; 2) colestase induzida por endotoxinas<sup>6</sup>; 3) colestase induzida por estinilestradiol<sup>6</sup>.

O modelo favorito para colestase extra-hepática utiliza ratos submetidos à ligadura do ducto biliar comum, tendo como consequência, na maioria das vezes, um quadro de fibrose biliar secundária<sup>7</sup>. Este modelo de colestase extra-hepática em ratos<sup>5</sup> produz alterações estruturais e funcionais múltiplas, semelhantes às encontradas em outras causas de colestase<sup>8</sup>, pois resultam em prejuízo funcional da captação hepatocelular, excreção canalicular e transporte de sais biliares e de vários outros ânions orgânicos<sup>9</sup>.

Analisando e desenvolvendo o modelo adotado pela literatura<sup>5</sup>, a equipe de Hepatologia do Departamento de Pediatria – UNESP, elaborou uma adaptação no manuseio deste procedimento cirúrgico.

### Objetivo

Descrever a adaptação da técnica da ligadura e ressecção do ducto biliar comum (descrita por Cameron e Oakley<sup>5</sup>) realizada no Laboratório Experimental do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)-UNESP, enfatizando suas vantagens.

### Métodos

O estudo da técnica da ligadura e ressecção do ducto biliar comum foi dividido basicamente em duas áreas:

#### 1 Teórica

Introdução ao procedimento cirúrgico e manejo dos animais, baseado em estudos publicados<sup>5</sup> e na Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)<sup>10</sup>.

#### 1 Prática em ratos

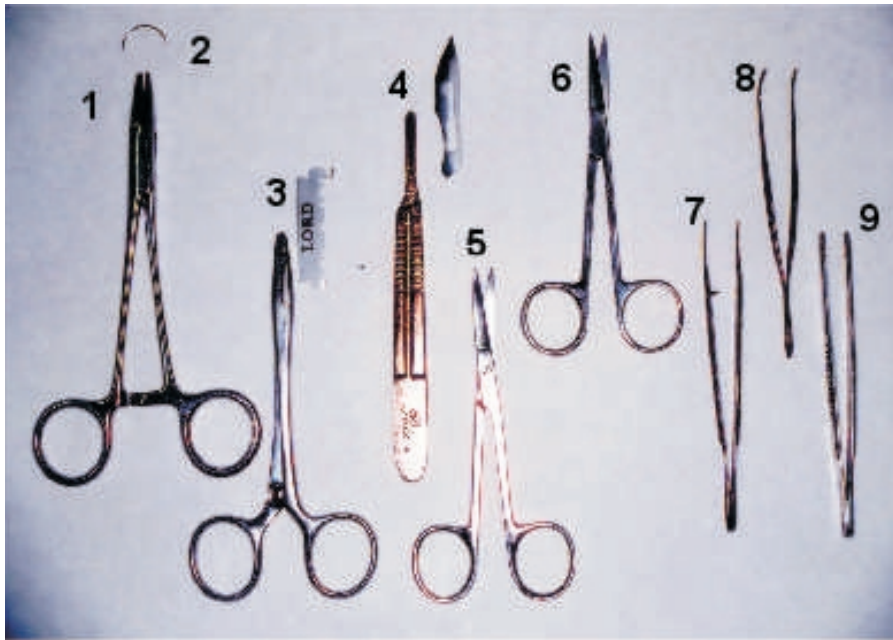
O procedimento cirúrgico da ligadura e ressecção do ducto biliar comum foi realizado em ratos machos (*Wistar*), com 21 dias de vida pós-natal (recém desmamados) e peso médio de 45 gramas. No procedimento foram utilizados:

#### a) Material cirúrgico:

∅ Luvas cirúrgicas; Gazes; Fios para ligadura e sutura.

#### b) Instrumentos cirúrgicos:

1. Trabalho realizado no Laboratório Experimental do Departamento de Pediatria, FMB, UNESP.
2. Biomédica, doutoranda do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Pediatria da FMB/UNESP.
3. Nutricionista, doutoranda do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Pediatria da FMB/UNESP.
4. Nutricionista, doutoranda do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Clínica Médica da FMB/UNESP.
5. Nutricionista, doutoranda do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Clínica Médica da FMB/UNESP.
6. Prof. Assistente Dr., responsável pela disciplina de Hepatologia Infantil, do Departamento de Pediatria da FMB/UNESP



**FIGURA 1** - Instrumentos cirúrgicos: 1: Porta-agulhas de Mayo-Hegar; 2: Agulha curva cilíndrica; 3: Porta-agulhas de Mayo-Hegar combinado com lâmina para tricotomia; 4: Bisturi com lâmina permutável; 5: Tesoura cirúrgica reta com ponta fina; 6: Tesoura Metzenbaum; 7: Pinça reta com ponta fina; 8: Pinça curva com ponta fina; 9: Pinça anatômica.

**QUADRO 1** – Manejo do animal, noções de bioterismo, técnica anestésica

- Ia.** Peso do animal utilizando-se a balança digital Mettler Toledo (modelo PB 3002, peso máximo = 3,100 g, peso mínimo = 0,5 g, sensibilidade de 0,1 g).
- Ib.** Anestesia intraperitoneal com pentobarbital na dose de 30mg/kg.
- Ic.** Posicionamento dos animais em decúbito dorsal horizontal na mesa operatória.

**QUADRO 2** - Técnica da abordagem abdominal

- IIa.** Tricotomia da parede abdominal anterior.
- IIb.** Incisão da pele na linha mediana, desde o apêndice xifóide até a cicatriz umbilical (**foto A**).
- IIc.** Exposição das camadas musculares e a linha Alba.
- IId.** Incisão da linha Alba do mesmo tamanho da abertura da pele
- IIe.** Abertura do peritônio com tesoura e exposição dos órgãos abdominais
- IIIf.** Exposição dos órgãos (estômago, fígado e intestino delgado) e do ducto biliar comum com abaixamento do duodeno (**foto B**).

**QUADRO 3** - Abordagem, dissecação e ressecção do ducto biliar

- IIIa.** Dissecação do ducto biliar comum desde abaixo da entrada do último ducto biliar até sua porção distal, próxima ao duodeno.
- IIIb.** Dupla ligadura do ducto biliar comum, sendo colocadas as ligaduras o mais proximal e o mais distalmente possível (**foto C**).
- IIIc.** Ressecção da porção do ducto biliar comum entre as duas ligaduras (**foto D**).
- IIId.** Fechamento da parede abdominal com sutura contínua

Os animais foram operados pelas pós-graduandas do grupo de Hepatologia do Curso de Pediatria. O preparo pré e pós-operatório foi realizado conforme as rotinas do Biotério do Departamento de Pediatria da FMB-UNESP, sendo o projeto previamente aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal, UNESP (CEEA). A técnica da ligadura e ressecção do ducto biliar comum descrita por Cameron e Oakley (1932)<sup>5</sup> está apresentada nos Quadros 1, 2 e 3.

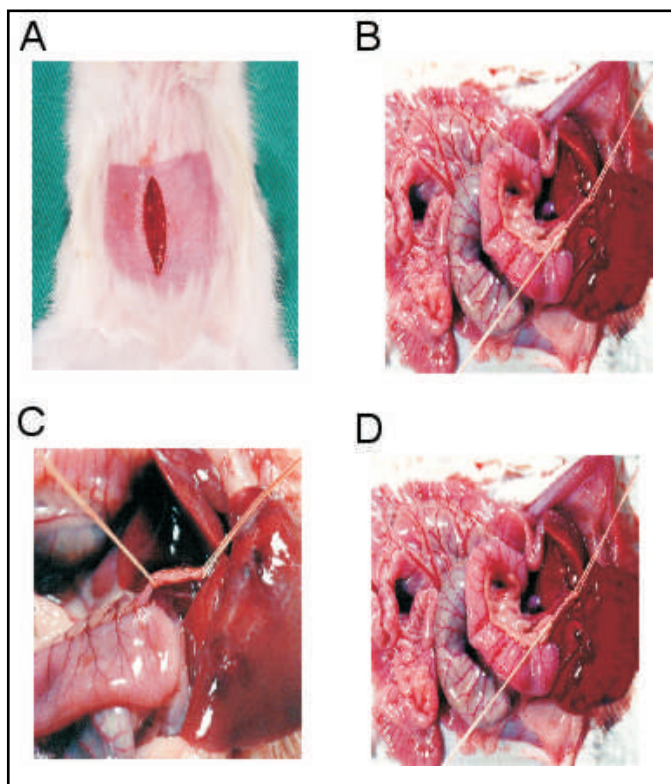
As figuras 3C e 3D diferem apenas quanto o manuseio, porém não diferem no procedimento cirúrgico (dissecção e ressecção do ducto biliar comum).

**Discussão**

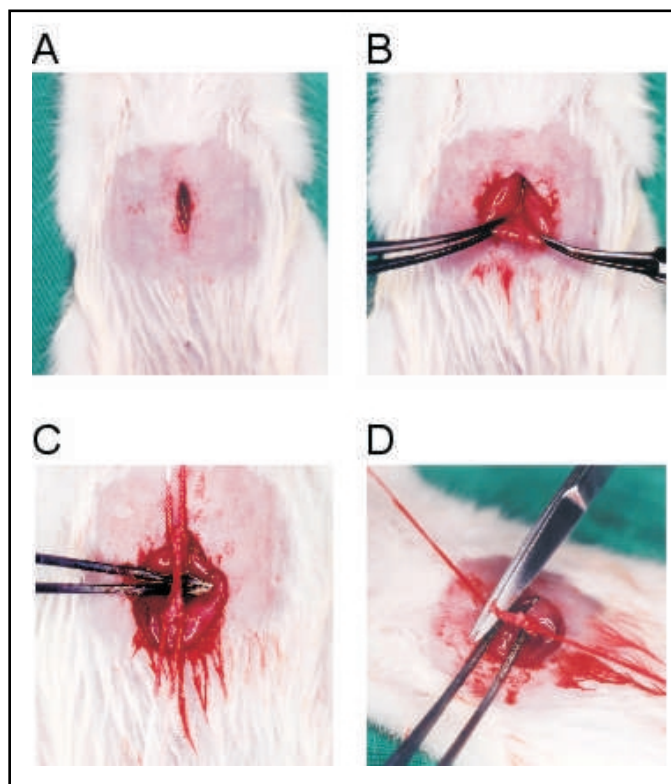
O procedimento cirúrgico da ligadura e ressecção do ducto biliar exige alto grau de qualidade técnica, paciência, concentração, e treinamento contínuo. A qualidade técnica, importante em qualquer ato cirúrgico, se torna ainda mais importante quando se trata da realização de delicadas intervenções cirúrgicas e o sucesso é determinado pelas condições fisiológicas e metabólicas do animal.

A adaptação da técnica da ligadura e ressecção do ducto biliar comum, realizada no presente trabalho, além de demonstrar a possibilidade de se reproduzir com mais facilidade e agilidade, apresenta uma taxa de mortalidade, no momento do procedimento cirúrgico, menor do que os animais submetidos à técnica anterior<sup>5</sup>. Além disso, notou-se que o quadro pós-operatório desses animais foi muito satisfatório quanto à sua recuperação; com retorno alimentar normal mais rapidamente e diminuição do risco de infecção devido a menor manipulação do animal.

Estes dados puderam ser observados durante experimentos realizados nos últimos anos no Laboratório Experimental do Departamento de Pediatria FMB-UNESP. Estes trabalhos foram objeto de dissertações de mestrado e teses de doutorado que tiveram como objetivo determinar o efeito dos fatores moduladores das suplementações vitamínicas<sup>11,12</sup>, produtos naturais<sup>13</sup> e dietas com baixo e alto teor de gordura<sup>14</sup> sobre as conseqüências nutricionais e hepáticas da colestase obstrutiva crônica e também estudo da correlação e regressão múltipla entre indicadores nutricionais e hepáticos<sup>15</sup>.



**FIGURA 2** - Demonstração do procedimento cirúrgico da ligadura e ressecção do ducto biliar comum realizado segundo a técnica descrita na literatura<sup>5</sup> realizada no Laboratório Experimental do Departamento de Pediatria, FMB-UNESP. **2A.** Incisão da pele na linha mediana, desde o apêndice xifóide até a cicatriz umbilical. **2B.** Exposição dos órgãos (estômago, fígado e intestino delgado) e do ducto biliar comum com abaixamento do duodeno. **2C.** Dupla ligadura do ducto biliar comum, sendo colocadas às ligaduras o mais proximal e o mais distalmente possível. **2D.** Ressecção da porção do ducto biliar comum entre as duas ligaduras.



**FIGURA 3** - Adaptações do procedimento cirúrgico da ligadura e ressecção do ducto biliar comum realizadas no Laboratório Experimental do Departamento de Pediatria, FMB-UNESP. A técnica adaptada (Figura 3) pelo grupo de Hepatologia do Departamento de Pediatria da UNESP consiste nos mesmos princípios descritos por Cameron e Oakley, 1932<sup>5</sup>, diferindo nos itens 2A e 2B da figura 2 (ou IIb e IIc do Quadro 2). **3A.** Incisão da pele na linha mediana de aproximadamente 1 cm. **3B.** Abertura do peritônio com tesoura reta sem a exposição dos órgãos abdominais, seguindo diretamente para a exposição do ducto biliar comum com abaixamento do duodeno, a partir da localização do fígado. **3C.** Dupla ligadura do ducto biliar comum, sendo colocadas as ligaduras o mais proximal e o mais distalmente possível. **3D.** Ressecção da porção do ducto biliar comum entre as duas ligaduras.

## Referências

- Poupon R, Chazouilleres O, Poupon RE. Chronic cholestatic diseases. *J Hepatol* 2000; 32(1):129-40.
- Spraul AD, Cosson C, Couturier M, Hadchouel M, Legrand A, Lemonnier F. et al. Standard treatment of tocopherol in alagille patients with severe cholestasis is insufficient. *Pediatr Res* 2001; 49:232-6.
- Sokol RRJ, Mack C. Etiopathogenesis of biliary atresia. *Semin Liver Dis* 2001; 21(4):517-24.
- Reichen J. Pharmacologic treatment of cholestasis. *Semin Liver Dis* 1993; 13:302-15.
- Cameron GR, Oakley CL. Ligation of the common bile duct. *J Pathol Bacteriol* 1932; 35:369-99.
- Arresse M, Yanan MA, Suchy F. Hepatobiliary transport: molecular mechanisms of development and cholestase. *Pediatr Res* 2001; 44:141-7.
- Greim H, Trülsch D, Roboz J, Dressler K, Czygan P, Hutterer F, Schaffner F, Popper H. Bile acids in normal rat livers and in those after bile duct ligation. *Gastroenterology* 1972; 63:837-45.
- Sherlock S. Cholestasis. In: Sherlock S. *Diseases of the liver and biliary system*. 8ed. Boston: Blackwell Scientific Publication, 1989. p 248-72.
- Bolder U; To-Nu HT; Sctieingart CD; Frick E, Hofmann AF. Hepatocyte transport of bile acids and organics anionss in endotoxemic rats: impaired uptake and secretion. *Gastroenterology* 1997; 112:214-25.
- Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) – Manual para técnica em bioterismo; 1996.
- Silva CRM. Efeitos da suplementação de vitamina C sobre efeitos decorrentes das alterações nutricionais da cirrose biliar secundária: estudo experimental em ratos jovens. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina de Botucatu; 2002.
- Eduardo LHPR. Efeitos da administração de vitamina A hidrossolúvel sobre as lesões e a disfunção hepática na colestase obstrutiva: estudo experimental em ratos jovens. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina de Botucatu; 2002.
- Suzigan MI. Efeitos hepatoprotetor do extrato aquoso de picão (*Bidens pilosa L.*) na hepatopatia causada por colestase obstrutiva: estudo experimental em ratos jovens. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina de Botucatu; 1999.
- Santos AR. Efeitos de dietas com baixo e com alto teor de gordura sobre o estado nutricional na colestase obstrutiva: estudo experimental em ratos jovens. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina de Botucatu; 2003.
- Santos AG. Estudo da correlação e regressão múltipla entre indicadores nutricionais e de lesão hepática na colestase obstrutiva crônica: estudo experimental em ratos jovens. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina de Botucatu; 2003.

Battochio APR, Santos AG, Silva, CRM, Santos AR, Coelho CAR. Adaptation of experimental model of extra-hepatic cholestasis in young rats. Acta Cir Bras [serial online] 2004 Jan-Feb;19(1). Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.

**ABSTRACT** - The authors describe the adaptation of the technique of ligation and resection of the common bile duct described in the literature, emphasizing their advantages in the postnatal-surgical recovery. This work was accomplished at the Experimental Laboratory of the Department of Pediatrics of FMB-UNESP.

**KEY WORDS** - Cholestasis. Experimental surgery. Ligation and resection of the common bile duct.

Conflito de interesse: nenhum

Fontes de financiamento: Fapesp, Capes e CNPq

Correspondência:

Ana Paula Ronquesel Battochio

Rua José Dal Farra, 1103

18603-790 Botucatu – SP

Tel: (14)6823-5736

apbattochio@ig.com.br

Data do recebimento: 24/11/2003

Data da revisão: 18/12/2003

Data da aprovação: 06/01/2004

Fotos coloridas disponíveis em [www.scielo.br/acb](http://www.scielo.br/acb)

**Fundação Adib Jatene**  
Divisão de Bioengenharia

**Fundação Adib Jatene**  
Alta Tecnologia e Qualidade

**OxiPuls** *Novo Conceito em Oxímetro de Pulso*

Configurações conforme sua necessidade:  
4 opções de display e caixa **Portátil ou Mesa**  
Com ou sem curva pletoisométrica

Portátil



Graphic



Med



Moni



Isso é possível graças a um único sistema eletrônico multi-função

Site: [www.fajbio.com.br](http://www.fajbio.com.br)

E-mail: [vendas@fajbio.com.br](mailto:vendas@fajbio.com.br)  
Tel: (0xx11) 5572 2017 / 5085 4009 - FAX: (0xx11) 5572 6512

**Fundação Adib Jatene**  
Alta Tecnologia e Qualidade

**MONICARD** 

Monitor Multiparâmetro Portátil  
Curvas ECG, Oximetria e Tendência

**MCA 2000**



M.S. : 10264470019

**Monitor de Coagulação Ativada**



M.S. : 10264470015

**DIGIBOMB**

Bomba Infusora Peristáltica



M.S. : 10264470019

**TUBO TRAQUEAL**

TUBO TRAQUEAL 3 TAMANHOS:  
8mm, 10mm e 12mm



M.S. : 10264470005

Site: [www.fajbio.com.br](http://www.fajbio.com.br)

E-mail: [vendas@fajbio.com.br](mailto:vendas@fajbio.com.br)  
Tel: (0xx11) 5572 2017 / 5085 4009 - FAX: (0xx11) 5572 6512