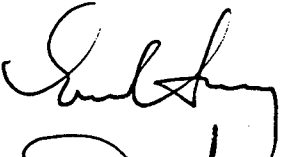
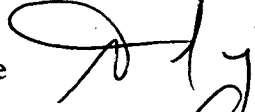
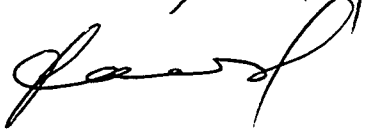






**Universidade Federal de Santa Catarina**  
**Centro de Ciências da Saúde**  
**Mestrado em Ciências Médicas**

## **DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

No dia trinta de março de mil novecentos e noventa e nove, às nove horas e trinta minutos, no Anfiteatro do Hospital Universitário da UFSC, o aluno do Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências Médicas – **MARCELO BIANCHINI TEIVE**, submeteu-se à defesa de sua Dissertação de Mestrado intitulada “**DILATAÇÃO DO COLÉDOCO EM RATOS WISTAR PELA TÉCNICA DE STRIPPING**”, ocasião em que foram emitidos os seguintes conceitos pela Banca Examinadora:

<b>NOME</b>		<b>CONCEITO</b>
Prof. Ernesto Francisco Damerau		<u>A</u>
Prof. Manoel Roberto Maciel Trindade		<u>A</u>
Prof. Edson José Cardoso		<u>A</u>
Prof. Raul Chatagnier Filho		<u>A</u>
<b>CONCEITO FINAL:</b>		<u>A</u>

Florianópolis, 30 de março de 1999.

  
**Prof. Ernesto Francisco Damerau**  
Presidente da Comissão Examinadora





Universidade Federal de Santa Catarina  
 Centro de Ciências da Saúde  
 Mestrado em Ciências Médicas

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**

**CANDIDATO: MARCELO BIANCHINI TEIVE**

A partir das nove horas e trinta minutos do dia trinta de março de mil novecentos e noventa e nove, no Anfiteatro do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, a Comissão Examinadora, constituída pelos Professores Ernesto Francisco Damerau, Manoel Roberto Maciel Trindade, Edson José Cardoso, Raul Chatagnier Filho e Carlos Alberto Justo da Silva como suplente, procedeu ao exame da Dissertação de Mestrado apresentada pelo **Dr. MARCELO BIANCHINI TEIVE**, intitulada "**DILATAÇÃO DO COLÉDOCO EM RATOS WISTAR PELA TÉCNICA DE STRIPPING**". Após explanação feita pelo candidato, o mesmo foi argüido pela Comissão Examinadora, sendo *aprovado* com os seguintes conceitos, nos termos da Resolução 010/CUn/97 e Regimento Interno do Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

NOME:	ASSINATURA	CONCEITO
Prof. Ernesto Francisco Damerau .....		A.
Prof. Manoel Roberto Maciel Trindade .....		A.
Prof. Edson José Cardoso .....		A.
Prof. Raul Chatagnier Filho .....		A.
CONCEITO FINAL: .....		

Florianópolis, 30 de março de 1999.

Prof. Ernesto Francisco Damerau  
 Presidente da Comissão Examinadora



**MARCELO BIANCHINI TEIVE**

**DILATAÇÃO DO COLÉDOCO  
EM RATOS WISTAR PELA TÉCNICA DE  
*STRIPPING.***

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Santa Catarina como  
requisito parcial para obtenção do  
Título de Mestre em Ciências Médicas.

**FLORIANÓPOLIS**  
1999

**MARCELO BIANCHINI TEIVE**

**DILATAÇÃO DO COLÉDOCO  
EM RATOS WISTAR PELA TÉCNICA DE  
*STRIPPING.***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Médicas.

**ORIENTADOR: PROF. DR. ERNESTO FRANCISCO DAMERAU  
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS ALBERTO JUSTO DA  
SILVA**

**FLORIANÓPOLIS  
1999**

**À BETTY, minha esposa, e aos  
meus filhos MARCELLO e  
ANDRÉ.**

**Aos meus pais, AMÉLIA e ACY.**

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. ERNESTO FRANCISCO DAMERAU, Chefe do Serviço de Cirurgia Geral do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e Orientador desta Dissertação, pelo apoio e incentivo em realizar este trabalho e pelos ensinamentos recebidos durante minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. CARLOS ALBERTO JUSTO DA SILVA Co-Orientador deste trabalho que com sua experiência em cirurgia experimental foi de inestimável importância na realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. MARIO SÉRGIO COUTINHO, Coordenador do Curso de Mestrado em Ciências Médicas da UFSC.

Ao Dr. GETÚLIO RODRIGUES DE OLIVEIRA FILHO, do Serviço de Anestesia do Hospital Universitário da UFSC, pela análise estatística.

Ao CORPO DOCENTE do Curso de Mestrado, pelos ensinamentos recebidos.

Aos Acadêmicos do Curso de Medicina da UFSC, EDUARDO PORTO RIBEIRO e MARCELO BIASI CAVALCANTE, que foram de inestimável importância no trabalho de laboratório.

Ao funcionário do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFSC, LUIZ HENRIQUE PRAZERES, pela sua ajuda importante nos trabalhos de laboratório.

À Secretária do Curso de Mestrado em Ciências Médicas da UFSC, TÂNIA REGINA TAVARES, por sua preciosa colaboração durante todo o curso .

Aos COLEGAS do Curso de Mestrado em Ciências Médicas, que durante o ano de estudos teóricos souberam compartilhar sua amizade e conhecimentos.

Ao Prof. FELIPE FELÍCIO e Prof. Dr. EDSON JOSÉ CARDOSO, chefes do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC durante o período do curso pelo incentivo.

Aos Profs. JOÃO JOSÉ DE DEUS CARDOSO e MAURO JOSÉ DOS SANTOS, pelo obséquio em ceder parte de seu instrumental microcirúrgico e contribuírem com sugestões importantes .

Aos Professores MARCELINO OSMAR VIEIRA E NEWTON MARQUES DA SILVA, Diretores do Hospital Universitário da UFSC, pelo empenho em conseguir recursos para viabilizar esta pesquisa.

Aos COLEGAS do Departamento de Clínica Cirúrgica, da Divisão de Clínica Cirúrgica e da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, que entenderam o propósito deste trabalho e facilitaram esta jornada, em especial o DR. JAIRO VIEIRA e o Prof. WILMAR DE ATHAYDE GERENT.

Ao Prof. RAUL CHATAGNIER FILHO, Chefe da Disciplina de Clínica Cirúrgica II do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC, pela compreensão, incentivo, e ensinamentos recebidos durante toda minha carreira.

A todos aqueles que auxiliaram na concretização deste trabalho.

# ÍNDICE

RESUMO .....	v
SUMMARY .....	vi
INTRODUÇÃO.....	7
OBJETIVO.....	10
MÉTODO .....	11
RESULTADOS .....	23
DISCUSSÃO .....	30
CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS .....	42
APÊNDICE .....	45

## RESUMO

Um método para se conseguir artificialmente a dilatação do colédoco no rato é a técnica conhecida como *stripping*. Esta técnica consiste na dissecação do ducto biliar do tecido conjuntivo de sustentação levando à uma desnervação com conseqüente atonia e dilatação. Um experimento para avaliar esta dilatação a curto prazo foi idealizado, e consistiu em medir o diâmetro do colédoco em 20 ratos antes e em 30 e 60 dias após o *stripping*. Outros 20 animais foram submetidos a uma operação *sham* nas mesmas bases, de maneira a servir como controles. Os dados quando analisados pelo teste *t* de *student* para amostras pareadas, revelaram que o grupo submetido ao *stripping* mostrou um aumento de calibre do colédoco significativo (  $p = 0,00$  em 30 dias e  $p = 0,00$  em 60 dias ). O grupo *sham* não evidenciou aumento significativo (  $p = 0,16$  em 30 dias e  $p = 0,44$  em 60 dias ). O teste U de Mann-Whitney evidenciou diferença percentual do calibre coledociano nos grupos *stripping* em relação aos respectivos *sham* e não evidenciou diferença percentual significativa entre os grupos *stripping* de 30 e 60 dias. O *stripping* foi realizado por microcirurgia. O *stripping* em ratos pode ser usado na criação de ductos de calibre maior, que facilitariam as anastomoses bilio-digestivas, técnicas de reconstruções parciais ou totais do colédoco e estudos que envolvam o processo de estase biliar a longo prazo, como por exemplo a produção de cálculos biliares. Uma desvantagem técnica foi a formação de aderências, que dificultaram as reoperações em alguns casos. A técnica mostrou-se adequada como alternativa ao método da ligadura do colédoco. Outros experimentos serão necessários para se avaliar a dilatação do colédoco de ratos pós- *stripping* por mais de 60 dias.



## SUMMARY

A method to produce dilatation of the rat choledochus is the stripping technique. It consists in the detachment of the duct from its supportive connective tissue producing denervation and atony. An experiment to check this dilatation in the early post-operative period was designed. It consisted in measuring the diameter of the choledochus in 20 rats before and in 30 and 60 days after the stripping. Other 20 animals underwent a sham procedure in the same basis to act as controls. The data when analyzed by the student t test for paired samples revealed that the stripping group showed a significant increase in the diameter of the choledochus ( $p = 0.00$  in 30 days and  $p = 0.00$  in 60 days). The differences observed in the sham group were of no statistical significance ( $p = 0,16$  in 30 days and  $p = 0,44$  in 60 days). The Mann-Whitney U test showed also significant percentual increase in the bile ducts diameter in the stripping groups when compared with its controls and no significant percentual difference in the 30 and 60 days stripping groups. The stripping procedure was performed by microsurgery. The stripping, in rats, by creating a wider duct, can be used in bilio-digestive anastomosis, in patching techniques and all the studies involving biliary stasis for a long time, like the production of biliary stones. A pitfall is the adherential process that added technical difficulties in some of the reoperations. The technique showed to be an alternative to the traditional choledochal ligation. Further studies are necessary to obtain data about the dilatation of the "stripped" choledochus for more than 60 days.

## INTRODUÇÃO

Até o final da década de 80, a maneira mais comum de se produzir experimentalmente a dilatação do colédoco em animais era a estenose, principalmente aquela obtida por ligadura.

Em 1989 Takada et al.<sup>1</sup> publicaram um trabalho sobre uma nova técnica para se conseguir, de maneira artificial e sem os inconvenientes da estenose, a dilatação da via biliar em cães. O método consistiu em realizar uma colecistectomia e posteriormente liberar o ducto biliar de seu suporte conjuntivo, desde o hilo hepático até a porção supra-duodenal, promovendo assim a desnervação desta estrutura.

O procedimento foi chamado de *stripping* pelos autores. O substantivo oriundo do verbo inglês *to strip*, que significa despir, desnudar, limpar, define o que foi conseguido cirurgicamente com o ducto biliar ao se remover dele todo o tecido de sustentação e a inervação.<sup>1</sup>

O trabalho destes autores mostrou que o ducto biliar dos cães submetidos ao *stripping* aumentava de calibre, atingindo um valor máximo na quarta semana.<sup>1</sup>

A vesícula biliar foi removida e o ducto cístico cateterizado para a realização de colangiografias utilizadas nas medições da via biliar.

Restaram dúvidas se o ducto biliar havia se dilatado em virtude da colecistectomia ou do *stripping*.<sup>1</sup>

Em 1992, os mesmos autores realizaram outro experimento e concluíram que a dilatação foi causada pela associação da colecistectomia com o *stripping*, e não por um dos procedimentos isoladamente; sem no entanto mencionar a explicação para tal fato.<sup>2</sup>

O emprego desta técnica em ratos foi descrito por Kurumado et al.<sup>3</sup>, em artigo sobre a produção de muco pelas células do epitélio coledociano em animais com colestase.

Estes autores utilizaram ratos com dezessete meses pós-*stripping* e observaram que os colédocos haviam se dilatado, em alguns animais cerca de oito vezes o calibre inicial.<sup>3</sup>

O objetivo deste trabalho foi observar o grau de dilatação causado pelo *stripping* no colédoco de ratos Wistar nos primeiros dois meses.

Na presença de dilatação coledociana, o pesquisador poderá associar as vantagens do rato como animal de experimentação a este método de dilatação, facilitando uma série de técnicas cirúrgicas ( pelo maior calibre do ducto) sem um longo período de espera.

A criação de um modelo de dilatação do colédoco a curto prazo, sem ligadura, e com preservação da função esfíncteriana, permite uma

significativa redução de custos, pela não utilização de animais envelhecidos, diminuição do tempo de pesquisa e ausência dos efeitos nocivos da ligadura.

## **OBJETIVO**

**Analisar o grau de dilatação do calibre do colédoco do rato Wistar submetido à cirurgia de *stripping* em 30 e 60 dias.**

## MÉTODO

Foram utilizados 40 ratos albinos da linhagem Wistar, fêmeas adultas, com peso entre 170 e 230g, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina ( UFSC ) e acomodados durante o experimento na sala de observação de animais do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC.

Foram instalados, até o ato cirúrgico, em gaiolas de ferro em grupos de 5 animais com água e ração para roedores Nuvilab CR1 (Nuvital Nutrientes Ltda. Curitiba. Paraná ) *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos da seguinte forma:

**Grupo *sham* 30 dias – 10 ratos.**

**Grupo *stripping* 30 dias – 10 ratos.**

**Grupo *sham* 60 dias – 10 ratos.**

**Grupo *stripping* 60 dias – 10 ratos.**

Os animais foram submetidos à anestesia geral com indução por inalação de éter isopropílico e manutenção por injeção intramuscular, em uma das patas traseiras, de Ketamina ( Parke-Davis, Guarulhos, SP ) + Xylazina (Bayer S. A. Saúde Animal, Porto Alegre, RS ) nas doses de 100mg e 10mg por Kg de peso respectivamente.<sup>4,5</sup>

Os animais uma vez anestesiados foram levados à uma balança de precisão ( Zanott. Balanças de Precisão Ltda., Pirituba, SP ) para pesagem e depois fixados com fita adesiva nas quatro patas numa prancheta cirúrgica em decúbito dorsal , e então, submetidos à laparotomia.

Após a cirurgia, foram identificados por um duplo sistema: pintura de listras coloridas na cauda e perfurações nas orelhas, realizadas com um alicate perfurador.

A prevenção e o tratamento da hipotermia no pós-operatório imediato foram conseguidos utilizando-se uma lâmpada de 40 W sobre a gaiola do animal, até que o mesmo estivesse totalmente desperto e locomovendo-se.

Alguns animais necessitaram ainda , devido à cianose e bradicardia, da administração de oxigênio por cateter colocado próximo às narinas.

No pós-operatório, os animais foram alojados em gaiolas individuais até a reoperação.

As disseções do colédoco para realização do *stripping* e as medições foram realizadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico ( DF Vasconcellos, São Paulo, Brasil ) com oculares do tipo grande-angular de 12.5X de aumento, sendo que a ocular direita estava equipada com um retículo de 1cm dividido em 10 subdivisões de 1mm e 1mm ainda dividido em 10 subdivisões de 0,1mm.

As medições foram sempre efetuadas pelo autor que para medir o diâmetro do colédoco, utilizou o aumento de 25X porque com esta magnificação a escala micrométrica do retículo ficava em "tamanho real", isto é, o tamanho da estrutura (colédoco) era lido diretamente na escala micrométrica sem a necessidade de fórmulas conversoras para ajuste de magnificação.

Durante as medições, a focalização indesejável do retículo acima ou abaixo da imagem a ser mensurada (efeito paralaxe) foi sempre evitada.

O retículo foi aferido com uma régua micrométrica ( Olympus Optical Co., Tokyo, Japan ), por um técnico em microscopia do Laboratório de Engenharia Biomédica do Hospital Universitário da UFSC.

Considerou-se que a largura do colédoco equivaleria ao seu diâmetro por se tratar de uma estrutura cilíndrica. No texto, a palavra calibre é utilizada como sinônimo de diâmetro ( externo ) do ducto biliar.

Para realização do *stripping* o animal foi submetido, após tricotomia abdominal, à laparotomia mediana, do apêndice xifóide até cerca de 3 cm abaixo, na linha média.

Após a abertura da parede por planos, as bordas da ferida operatória foram mantidas afastadas por meio de fios de sutura fixados na prancheta cirúrgica.



A seguir, o intestino delgado e o cólon foram eviscerados e envolvidos com gaze umedecida em solução salina.

A exposição da via biliar, na primeira operação, foi conseguida com o auxílio de cotonetes umedecidos em solução salina.

O duodeno foi tracionado no sentido caudal e os lobos hepáticos afastados por cotonetes no sentido cranial, por um assistente.

A via biliar foi então identificada entre o tecido pancreático e o hilo hepático ( Fig. 1).

A dissecação do colédoco foi realizada utilizando-se instrumental de microcirurgia e consistiu na remoção do tecido conjuntivo que sustenta o colédoco desde o hilo até o início do tecido pancreático distalmente.

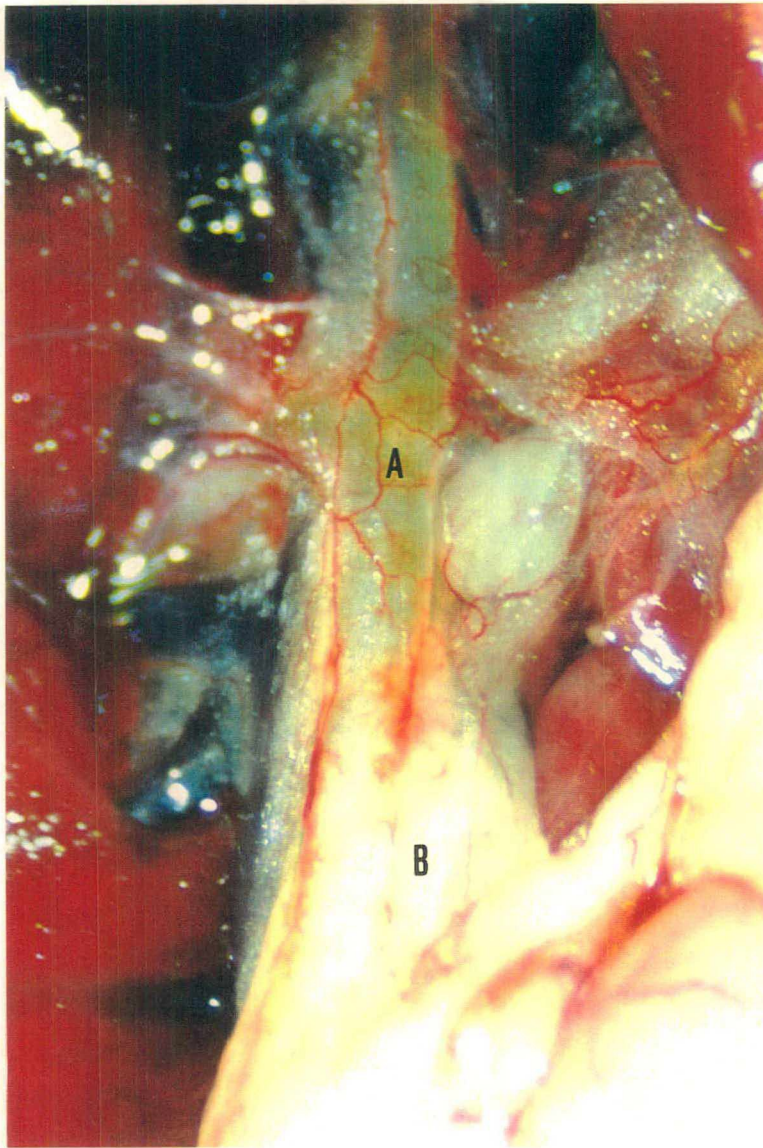
Nesta fase, aumentos de 1.5 X e 10 X foram empregados, evitando-se sempre a apreensão instrumental direta do ducto biliar.

Com essas manobras o colédoco foi totalmente destacado do seu tecido de sustentação ( Fig. 2 ).

Após esta etapa, procedeu-se à medição no segmento ductal logo acima do tecido pancreático.

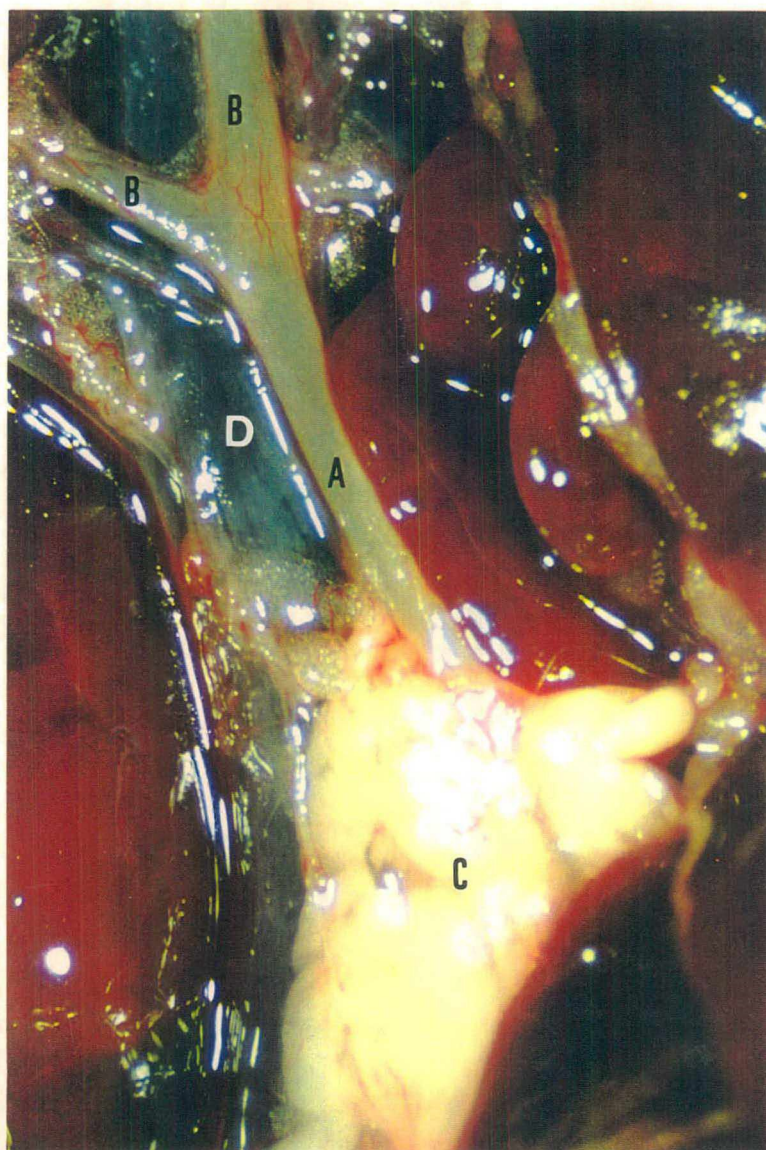
A parede abdominal foi fechada em dois planos : pele e plano músculo-aponeurótico, com fio de *nylon* 000 em sutura contínua.

Nas reoperações procedeu-se da mesma forma em relação à abertura da parede abdominal, incisando-se sobre a cicatriz cirúrgica da primeira



**Figura 1.**

O colédoco ( A ) pode ser visto acima do pâncreas ( B ) e envolto pelo tecido conjuntivo de sustentação.



**Figura 2.**

Colédoco submetido ao *stripping* e suas relações anatômicas:

A- Colédoco

B- Hepáticos

C- Pâncreas

D- Veia Porta

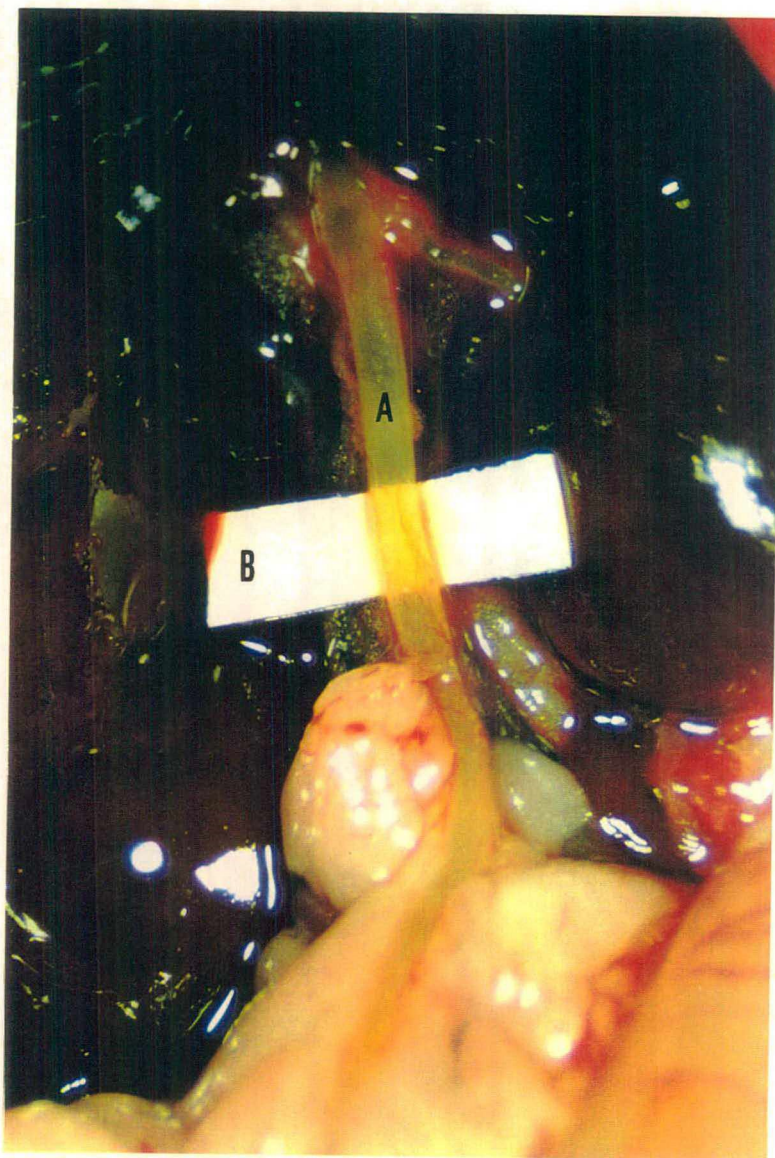
operação e afastando-se as bordas da ferida operatória com fios fixados na prancheta cirúrgica.

Em todos os casos de reoperações pós- *stripping* , para acessar a via biliar foi necessário desfazer aderências desta com o fígado e o duodeno.

Uma vez dissecado, o colédoco foi submetido à medição com o retículo utilizando-se o mesmo aumento de 25X na localização padronizada.

Para facilitar a leitura do retículo, utilizou-se um anteparo de plástico aluminizado de cor branca, obtido pelo recorte de uma embalagem de fio de sutura ( Fig.3 ).

Após a segunda cirurgia os animais foram sacrificados por inalação contínua de éter isopropílico até o óbito.



**Figura 3.**

O anteparo plástico passado por detrás do colédoco facilita a medição.

A- Colédoco

B- Anteparo

### **GRUPOS SHAM:**

Estes animais foram operados pela técnica descrita anteriormente e neles procedeu-se na primeira cirurgia à medição do colédoco imediatamente acima do tecido pancreático supra-duodenal sem nenhum tipo de dissecação, apenas com afastamento dos lobos hepáticos e tração duodenal com cotonetes umedecidos em solução salina.

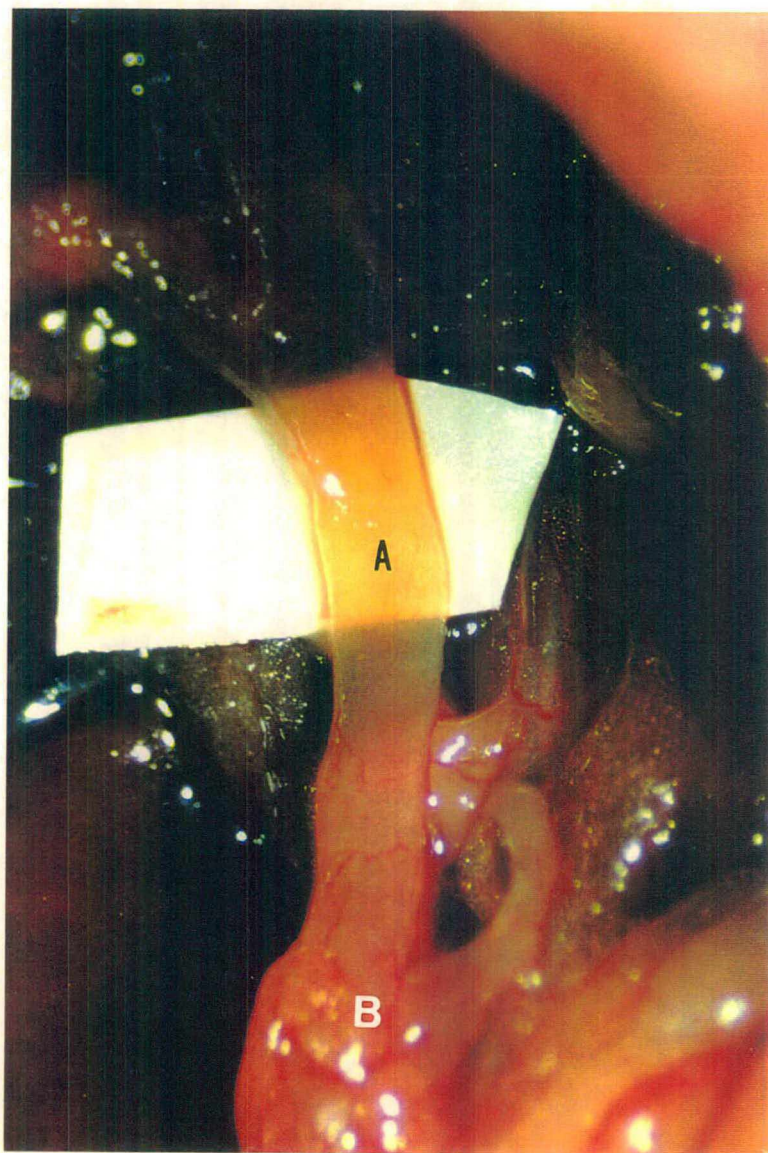
Na reoperação, 30 ou 60 dias após , o ducto foi identificado e novamente medido sendo que desta vez o anteparo de plástico, foi passado por detrás desta estrutura para facilitar a leitura na escala micrométrica do retículo. Este recurso não foi utilizado na primeira cirurgia porque a dissecação ao redor da via biliar poderia causar aderências e estenoses.

As medições foram sempre realizadas *in vivo* com magnificação de 25 X e no mesmo local do colédoco, isto é, logo acima do tecido pancreático.

### **GRUPO STRIPPING:**

Estes ratos foram submetidos, na primeira cirurgia, ao *stripping* do colédoco e subsequente medição do seu calibre acima do tecido pancreático com o auxílio do anteparo plástico.

Nas reoperações, 30 ou 60 dias após, o local da medição inicial era identificado, o anteparo de auxílio passado por detrás do ducto e a medição efetuada ( Figs. 3-4 ).



**Figura 4.**

Em grande aumento (25X) observa-se o colédoco livre do tecido areolar de sustentação (A) que pode ser visto junto ao tecido pancreático (B).



## **ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Os dados obtidos por meio das medições nos grupos foram comparados usando-se o teste t de Student para amostras pareadas e a significância foi determinada no nível de  $p \leq 0,05$ . Os valores foram expressados como média  $\pm$  desvio padrão ( DP ).<sup>6</sup>

Também foi calculada a variação percentual do diâmetro dos colédocos nos quatro grupos estudados [ ( Medida 2 - Medida 1 )/Medida 1\*100] e comparada entre os grupos pelo teste U de Mann-Whitney.<sup>6</sup>

## **DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA:**

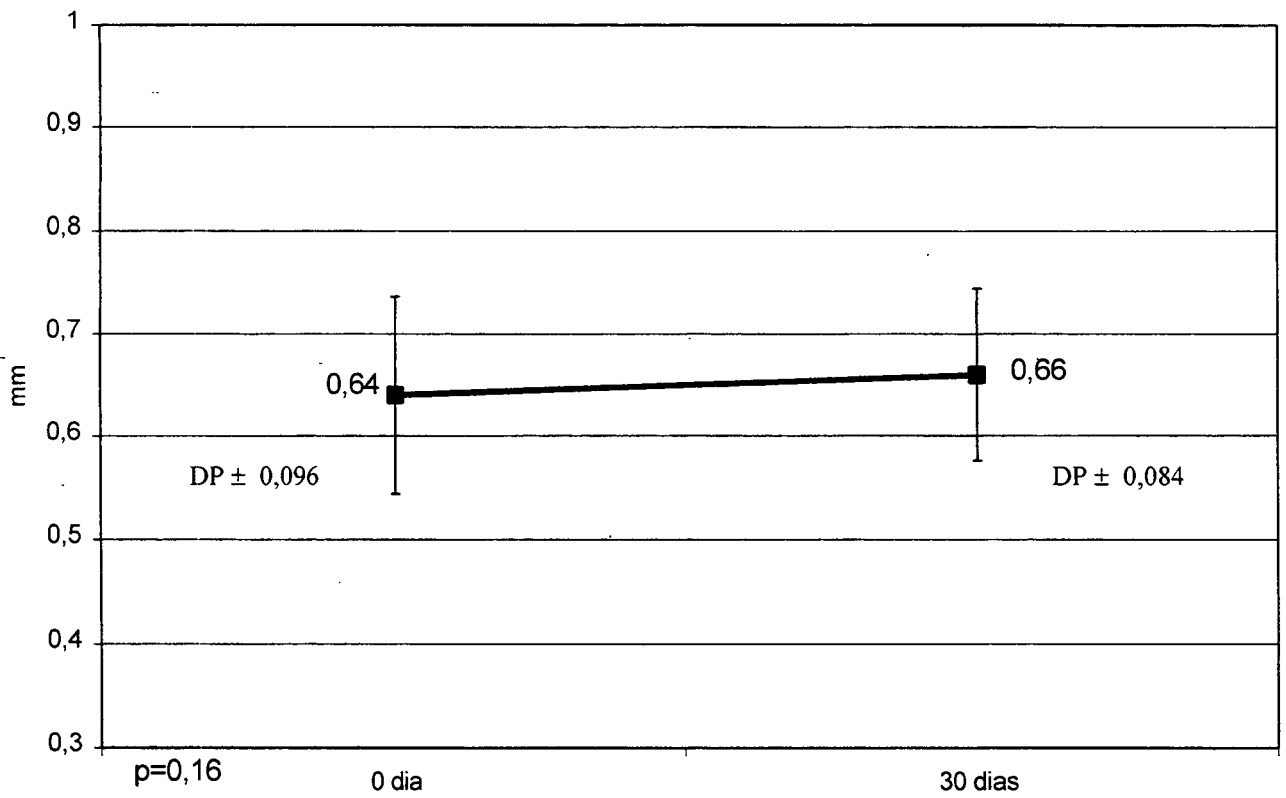
A documentação fotográfica foi realizada utilizando-se um microscópio Olympus SZ4060 com sistema fotomicrográfico PM-10AK3 (Olympus Optical Co.,Tokyo, Japan ).

O filme utilizado foi o Kodacolor Gold 100 ASA ( Kodak da Amazônia. Ind. e Com. Ltda. Manaus . AM ).

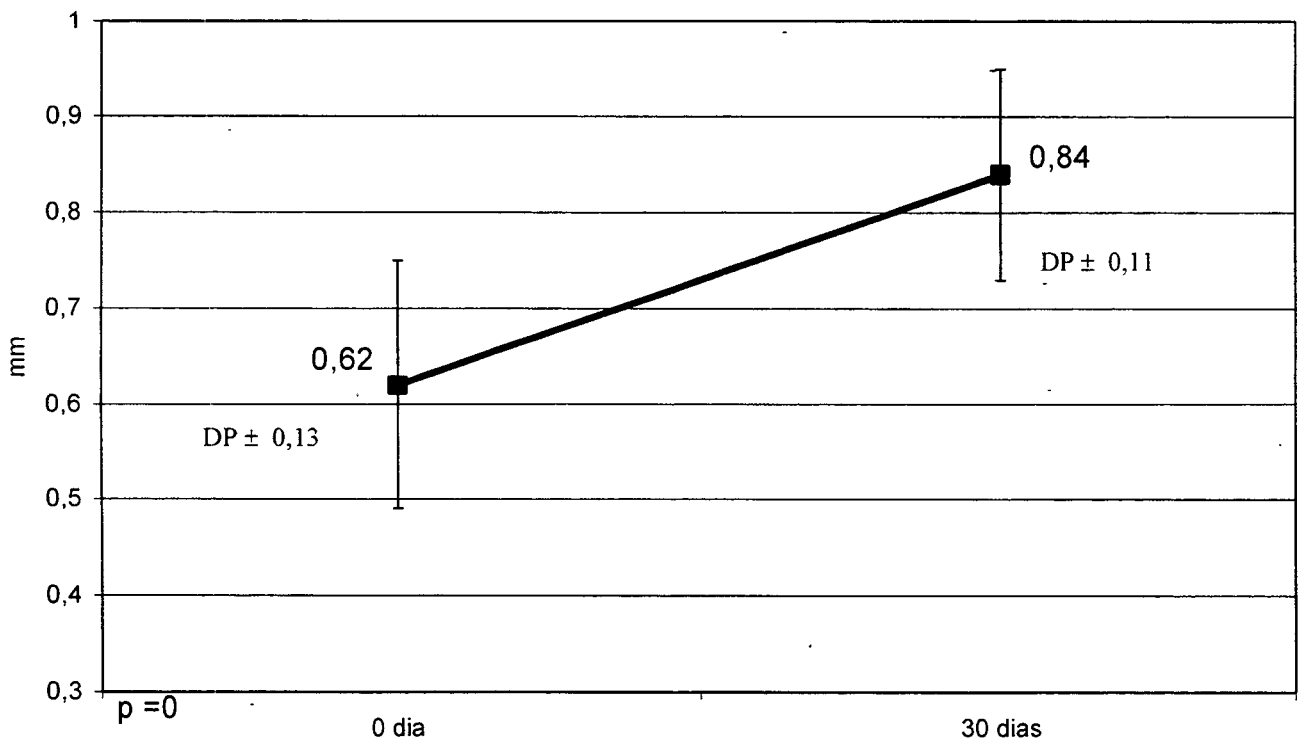
## RESULTADOS

Nas figuras 5 a 8 estão representados os valores em milímetros ( Média  $\pm$  DP ) dos diâmetros inicial e final do colédoco em cada um dos grupos estudados.

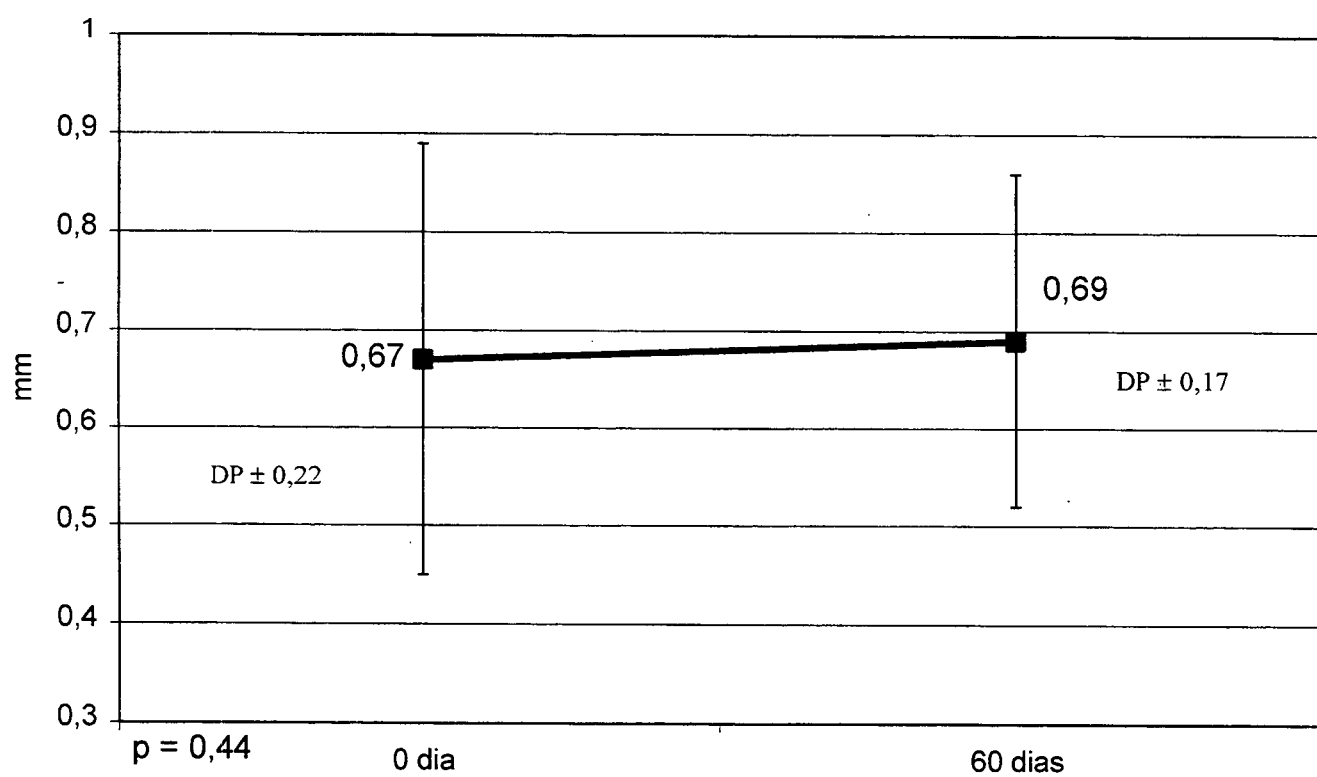
Observa-se que não houve aumento significativo do diâmetro do colédoco em nenhum dos grupos *sham* enquanto que aumentos significantes ocorreram nos grupos *stripping*.



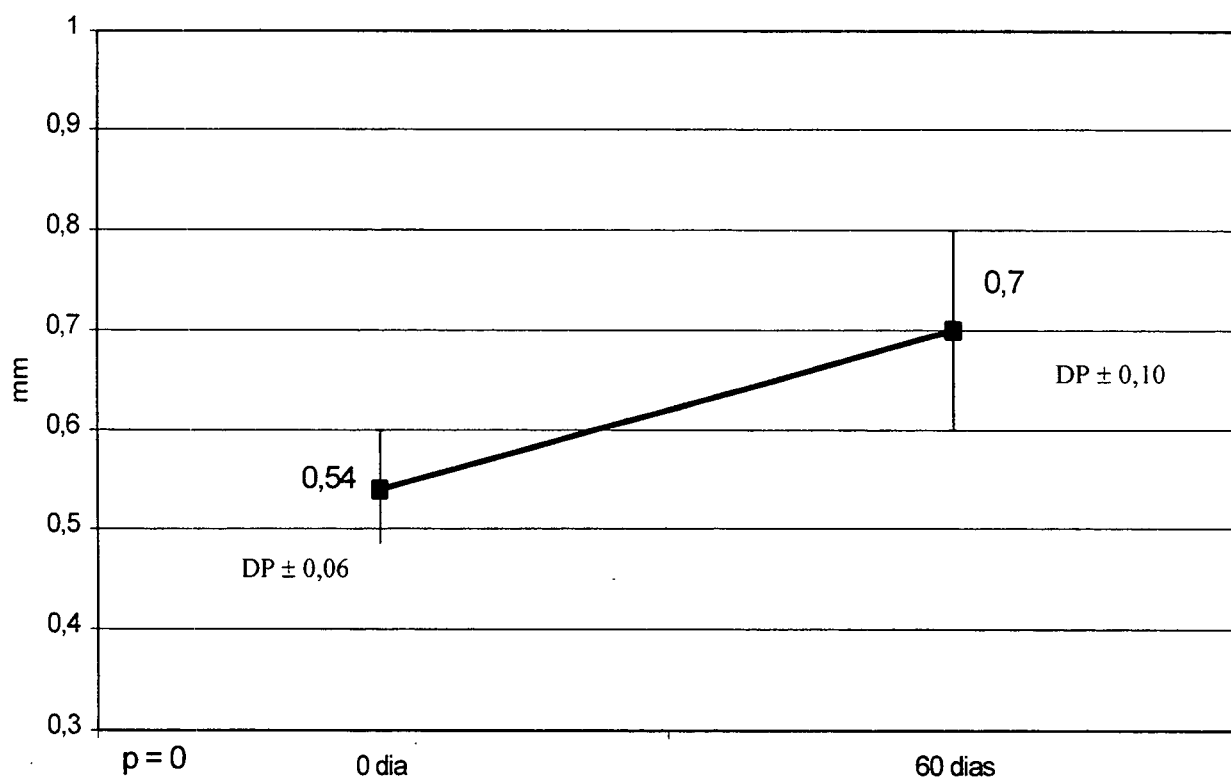
**Figura 5.** Diâmetro do colédoco no Grupo *sham* 30 dias. Média ± DP.



**Figura 6.** Diâmetro do colédoco no Grupo *stripping* 30 dias. Média  $\pm$  DP.



**Figura 7.** Diâmetro do colédoco no Grupo *sham* 60 dias. Média ± DP.



**Figura 8.** Diâmetro do colédoco no Grupo *stripping* 60 dias. Média ± DP.

Analisando a variação percentual do diâmetro dos colédocos nos quatro grupos estudados  $[(\text{Medida 2} - \text{Medida 1}) / \text{Medida 1} * 100]$  obtiveram-se os seguintes valores (%):

**TABELA 1. ANÁLISE DA VARIAÇÃO PERCENTUAL.**

<b>Grupo</b>	<b>Mediana (%)</b>	<b>Quartil inferior (%)</b>	<b>Quartil superior (%)</b>
Sham 30 dias	0,00	0,00	0,00
Stripping 30 dias	36,66	21,42	50,00
Sham 60 dias	0,00	- 4,54	18,33
Stripping 60 dias	33,33	16,66	36,66

As comparações entre os grupos pelo teste U de Mann-Whitney revelaram:

**TABELA 2. COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS.**

<b>Comparação</b>	<b>Mann-Whitney (p =)</b>
Sham 30 dias x Stripping 30 dias	0,000319
Sham 60 dias x Stripping 60 dias	0,007406
Sham 30 dias x Sham 60 dias	0,76
Stripping 30 dias x Stripping 60 dias	0,51

A análise mostrou que a variação percentual do diâmetro do colédoco nos grupos *sham* 30 dias e *sham* 60 dias não foi significativa.

A variação percentual do diâmetro do colédoco foi significativamente maior nos grupos *stripping* 30 e 60 dias , comparadas aos respectivos grupos *sham*.

Não houve diferença significativa entre as variações percentuais do diâmetro do colédoco entre os grupos *stripping* 30 e 60 dias (Tabelas 1 e 2 ).



## DISCUSSÃO

Várias afecções no ser humano necessitam de derivações biliares e conseqüentemente de modelos animais para se estudar os efeitos destas técnicas sobre a anatomia e fisiologia do aparelho digestivo .<sup>7</sup>

As anastomoses bílio-digestivas em ratos são tecnicamente dificultadas pela pequena dimensão do colédoco desses animais ( 0,5 a 1,0 mm ) gerando a necessidade da obtenção experimental de ductos com calibre maior.<sup>8</sup>

A opção pelo rato neste experimento se deve a vários fatores: características genéticas padronizadas, suas pequenas dimensões que permitem o armazenamento de muitos animais em pequenos espaços, menor custo, relativa facilidade de manuseio, resistência à infecções, ciclo de vida curto e reprodução em alta escala. O conhecimento existente sobre a anatomia, fisiologia, comportamento e genética das suas várias linhagens, permitem que os resultados obtidos em pesquisas experimentais possam contribuir para um melhor entendimento de problemas médicos.<sup>9,10,11</sup>

A opção pela utilização de fêmeas baseou-se na experiência obtida no piloto onde observamos que os machos possuem maior quantidade de tecido adiposo junto ao colédoco tornando a dissecação e as medições mais difíceis. As fêmeas adultas ( Wistar ), além de serem mais fáceis de se obter junto ao

biotério, mantém uma média de peso mais constante ao longo da vida , em torno de 200g enquanto os machos podem atingir até 500g. <sup>12</sup>

Para a realização do *stripping* é necessário conhecer a anatomia do fígado e vias biliares do rato.

O fígado é um órgão de cor marron-escura, localizado abaixo do diafragma, predominantemente do lado direito. É dividido em quatro lobos: um grande lobo mediano, um lobo lateral direito, um lobo lateral esquerdo e um pequeno lobo caudado. O colédoco ( *ductus choledochus* ) é formado pela junção dos hepáticos de cada lobo, tem um curso descendente, atravessa o tecido pancreático, onde recebe canalículos deste órgão e dirige-se para o duodeno onde abre-se na papila aproximadamente a 25 mm distalmente ao piloro. Neste nível é circundado por uma estrutura muscular similar ao esfíncter de Oddi dos seres humanos. Seu diâmetro é praticamente uniforme, cerca de 0,5 a 1,0 mm e não existe cístico e vesícula biliar. <sup>9,11,12,13</sup>

Neste experimento a técnica anestésica utilizada mostrou-se eficaz. No entanto, em alguns animais, ao final do procedimento cirúrgico houve a necessidade da complementação anestésica através de inalação suplementar de éter. Deve-se ter cuidado nesta fase com a depressão respiratória causada por este agente anestésico e ministrar doses pequenas observando o ritmo respiratório e cardíaco do animal. Em alguns casos, oxigênio via cateter colocado próximo às narinas, foi necessário para melhorar as condições

ventilatórias do animal e evitar uma parada cardio-respiratória que ocorreu, em um caso, após a indução anestésica e que foi revertida com sucesso, pela administração de oxigênio e massagem cardíaca externa.

No pós-operatório imediato, alguns animais não recobram imediatamente a consciência, e foram observados cuidadosamente quanto aos sinais vitais por algumas horas. Nos cianóticos, foi administrado oxigênio via cateter colocado próximo às narinas e calor através de uma lâmpada de 40W posicionada sobre o animal até que o mesmo estivesse totalmente desperto e locomovendo-se.

Waynforth et al <sup>11</sup> referem que a hipotermia é a maior causa de óbitos durante a anestesia em ratos. Todos os anestésicos, inclusive a associação Xylasina + Ketamina <sup>5</sup>, alteram o centro termo-regulador diminuindo a temperatura corporal. Este fato é mais pronunciado em animais de pequeno porte, devido a sua grande área de superfície corporal em relação à uma pequena massa corpórea. <sup>11</sup>

Houve 5 óbitos neste experimento, todos devidos a problemas anestésicos na indução ou à depressão respiratória no pós-operatório imediato que não foi revertida com as medidas descritas acima. Estes animais foram substituídos.

A extensão da laparotomia mostrou-se adequada para a realização dos procedimentos cirúrgicos. Durante a incisão, cuidado especial deve ser

observado na porção proximal da ferida operatória, junto ao apêndice xifóide, para não lesar o tênue diafragma do rato e provocar um pneumotórax. Esta complicação surgiu em um dos animais e foi tratada com sutura do pertuito diafragmático/pleural e drenagem por punção trans-diafragmática com agulha de insulina; sem seqüelas.

A presença de um auxiliar para afastar os lobos hepáticos é imprescindível para a perfeita exposição da via biliar, realização do *stripping* e das mensurações. Como afastadores foram utilizados cotonetes que se mostraram adequados para realizar a exposição sem danificar os tecidos.

Considerando que o pâncreas do rato envolve o colédoco na sua porção distal, a dissecação para realizar o *stripping* não deve lesar esta estrutura para evitar a ocorrência de pancreatite aguda por lesão de tecido pancreático e de pequenos ductos que drenam suco pancreático diretamente para o colédoco. Esta complicação ocorreu nos primeiros animais operados na fase de piloto.

Durante a realização do *stripping* evitou-se a apreensão do colédoco com pinças para não produzir lesões que poderiam evoluir para estenose e falsear resultados em relação à dilatação da via biliar. Atenção especial durante a dissecação foi dedicada à localização do ducto hepático que drena o lobo caudado, uma vez que esta estrutura é muito curta e de localização posterior ao colédoco, podendo inadvertidamente ser lesada. Pequenos sangramentos foram controlados por compressão mecânica com os cotonetes.

Nas reoperações dos grupos *stripping*, houve em alguns casos dificuldades técnicas para a identificação e isolamento do colédoco, devido à presença de aderências, sendo este fato um aspecto negativo do modelo *stripping*. Estas aderências foram causadas provavelmente, pelo dano à cobertura peritoneal do colédoco e das vísceras adjacentes.<sup>32</sup>

As técnicas mais utilizadas para a confecção de um modelo de dilatação coledociana em ratos são: a ligadura simples, a secção entre ligaduras e a ressecção de um segmento do ducto entre ligaduras.<sup>14</sup>

Estas técnicas trazem como consequências adversas: dilatação linfática, fibrose hepática, cirrose biliar, hipertensão pulmonar e eventualmente sepse; principalmente quando a ligadura permanece por um tempo prolongado, ainda que algumas dessas alterações possa ser revertida por uma derivação bílio-digestiva.<sup>16-21</sup>

Ni et al.<sup>22</sup>, abordaram um problema freqüente da ligadura que é a recanalização. Utilizando técnicas de microcolangiografia e cortes histológicos convencionais, mostraram que existe proliferação de estruturas glandulares que circundam o colédoco formando pequenos ductos colaterais que fazem um *bypass* da obstrução, resolvendo a colestase. Isto pode ocorrer também com canalículos pancreáticos. Com a finalidade de contornar este problema, outros pesquisadores desenvolveram técnicas alternativas para evitarem a ocorrência da recanalização.<sup>23,24</sup>

Um outro aspecto importante a se considerar em relação à obstrução biliar se deve ao fato de que a ausência de bile no intestino favorece a proliferação de bactérias Gram negativas com translocação precoce e sepse em animais, três semanas após a ligadura.<sup>25</sup>

Visando diminuir os efeitos indesejáveis da obstrução total, foram desenvolvidas técnicas de obstrução parcial do colédoco.<sup>14,26</sup>

Como se pode observar, as técnicas que dilatam o colédoco no rato por intermédio da criação de uma obstrução total ou mesmo parcial trazem uma série de afecções graves para o animal, podendo de certa forma inviabilizar principalmente estudos com tempo de observação prolongado.<sup>16-18, 21, 23, 25</sup>

Uma técnica que produziu dilatação na via biliar sem as inconveniências das obstruções foi descrita em 1989 por Takada et al.<sup>1</sup> em cães. Este estudo mostrou que os ductos biliares cirurgicamente destacados do seu tecido de sustentação ( *stripping* ) e assim privados de sua inervação, dilataram de um diâmetro médio de 2,44 mm para 6,47 mm após quatro semanas. Estes autores observaram que o colédoco dilatado apresentou apenas discretas alterações inflamatórias na sua parede e que o "esfíncter de Oddi" funcionou de maneira normal, como pode ser avaliado por meio de manometria e estudos colangiográficos pré e pós *stripping*.

Takada et al.<sup>1</sup> foi suscitado a realizar experimentos com a técnica de *stripping* pela leitura de trabalhos que referiam dilatação do colédoco

humano após extensas ressecções gástricas por câncer, com dissecação ganglionar junto à via biliar extra-hepática.

Takada et al.<sup>1</sup> mostraram, por meio de colangiografias, que as ramificações intra-hepáticas que não tinham sido desprovidas de sua sustentação tecidual e inervação não se dilataram. Em 1992, estes autores publicaram um trabalho sobre o método de se produzir colangiectasia em cães por *stripping*, onde, para se conseguir a dilatação do colédoco, é necessária a combinação de colecistectomia e do *stripping*, uma vez que somente uma ou outra condição não produz, por si só, este efeito.

Em 1996, Kurumado et al.<sup>3</sup> publicaram o único trabalho, a que tivemos acesso na literatura, que utilizou a técnica do *stripping* em ratos. O objetivo foi produzir estase biliar e analisar a produção de muco pelo epitélio coledociano. O experimento foi realizado em animais submetidos ao *stripping* quando tinham 7 semanas e reoperados para as respectivas observações 17 meses depois, quando os ratos tinham um diâmetro ductal médio de 8,2 mm, enquanto os controles mostravam um diâmetro médio de 1,0 mm.<sup>3</sup>

Estes dados evidenciaram que 17 meses depois do *stripping* houve uma dilatação do colédoco de até cerca de 8 vezes o diâmetro inicial.<sup>3</sup> Não há menção à dilatação precoce do colédoco ou outros dados quanto à fisiopatologia do *stripping*; Kurumado et al.<sup>3</sup> afirmam que a estase biliar pode ser causada artificialmente pela dilatação do colédoco por meio do

destacamento do ducto biliar do ligamento hepatoduodenal ( *stripping* ) no cão e no rato; fazendo referência a um trabalho por eles ( Kurumado et al <sup>3</sup> ) não publicado.

Referiram não ter encontrado anormalidades nos fígados dos ratos dos grupos controle e *stripping*. <sup>3</sup> As superfícies internas dos ductos biliares estavam lisas e sem alterações inflamatórias ou tumorais, assim como não foi detectada infecção bacteriana na bile. À microscopia, discreto infiltrado inflamatório e fibrose foram notados na parede do colédoco dos ratos do grupo *stripping*. Estas observações foram feitas por necrópsia aos 17 meses.

Carrier e Connat <sup>27</sup> demonstraram que a parede do colédoco no rato consiste de epitélio cercado por tecido conjuntivo, rico em fibras elásticas e esparsas células de musculatura lisa .

Berthoud et al. <sup>28</sup> descreveram uma rica inervação vagal do colédoco e sugerem que ducto biliar possa ter um papel análogo ao da vesícula biliar e que sua tensão possa ser monitorada por essa inervação.

Esses fatos podem dar substrato às bases fisiopatológicas do *stripping* .

A obtenção de um colédoco dilatado por *stripping* a curto prazo, economizaria tempo de pesquisa e redução de custos na manutenção dos animais. Este, foi o fator determinante na concepção deste estudo, que observou a dilatação do colédoco em 30 e 60 dias.



Nestes prazos, se houvesse dilatação significativa, o pesquisador poderia utilizar o modelo para facilitar tecnicamente as anastomoses bílio-digestivas, a sutura de remendos na parede do ducto, a introdução de moldes, e a interposição de substitutos biológicos ou artificiais do colédoco, uma vez que todos esses procedimentos se tornam mais fáceis de serem executados quanto maior seja o calibre da via biliar.

Já em prazos maiores, a exemplo do que fez Kurumado et al.<sup>3</sup>, o modelo poderia ser utilizado em pesquisas envolvendo estase, uma vez que os animais permanecem saudáveis a longo prazo. Uma outra aplicação seria a produção de cálculos biliares em ratos, uma vez que ela depende de três fatores: estase, infecção e dieta baixa em proteínas.<sup>29</sup>

Como instrumento de medida da dilatação coledociana, os trabalhos de Takada et al.<sup>1, 2</sup> utilizaram a colangiografia, enquanto Kurumado et al.<sup>3</sup> realizaram medições em exames histopatológicos. Neste estudo foi usado o retículo montado na ocular do microscópio, devido à sua praticabilidade e a vantagem de ser utilizado várias vezes no mesmo animal *in vivo*, assim como sua precisão, segundo demonstraram outros pesquisadores.<sup>30, 31</sup>

Na primeira medição nos grupos *sham*, em alguns casos, houve alguma dificuldade em identificar uma das bordas do colédoco devido à presença de tecido adiposo ou areolar. Este fato pode ter contribuído para eventuais pequenas diferenças nestas mensurações.

A colocação do anteparo plástico colocado por detrás do colédoco facilitou a visibilização do retículo, no entanto deve-se ter a precaução de evitar que este pressione o colédoco, alterando a largura do mesmo ( Figs. 3 e 4 ).

Este experimento comprovou a ocorrência de dilatação do colédoco pelo *stripping* em 30 e 60 dias, no entanto, como seria de esperar, a dilatação em 60 dias não foi maior que aquela obtida com 30 dias. Estatisticamente a diferença entre os dois grupos ( 30 e 60 dias) não foi significativa, apesar de ter sido paradoxalmente menor em números absolutos no grupo de 60 dias. Quando comparamos a dilatação obtida em cães <sup>1</sup> aos 30 dias que foi de 266%, com a dos ratos no mesmo período — 33,6% — podemos concluir que a reação ao *stripping* nestes dois estudos foi significativamente diferente por razões ligadas provavelmente às diferenças anatômicas e fisiológicas entre as duas espécies.

A escassa literatura acerca dos efeitos do *stripping* sobre a via biliar do rato, dificulta a explicação para a semelhança dos resultados obtidos nas medições aos 30 e 60 dias ( Tabelas 1 e 2 ).

Uma hipótese plausível seria a de que o colédoco do rato reage à desnervação causada pelo *stripping* com uma dilatação inicial que pode ser medida aos 30 dias e mantém uma curva em "platô", que permanece pelo menos até 60 dias, mas de duração total ainda desconhecida e que depois

haveria uma dilatação progressiva, porém também de padrão ainda não precisado.

Para responder a estas questões serão necessários novos experimentos com medições em tempos posteriores a 60 dias para se descobrir qual o tipo de curva de crescimento do calibre do colédoco no rato submetido ao *stripping* além de 60 dias.

Durante o período de observação, não houve óbitos ou casos de icterícia no presente estudo.

## CONCLUSÃO

A técnica de *stripping* produziu dilatação em colédocos de ratos Wistar em 30 e 60 dias.

## REFERÊNCIAS

1. Takada T, Yasuda H, Uchiyama K, Hasegawa H, Shikata J, Katsumi T. Producing Experimental Cholangiectasis in Dogs by the Stripping Method. *Jpn J Surg* 1989; 19:57-62.
2. Takada T, Yasuda K, Uchiyama H, Hasegawa H, Shikata J, Takada K. Relationship of Cholecystectomy and Detachment of the Common Bile Duct to Chronic Bile Duct Dilatation. *Hepato-Gastroenterology* 1992; 39:470-474.
3. Kurumado K, Nagai T, Abe H. Mucus Production of Choledochal epithelial Cells due to Bile Stagnation in the Rat. *Dig Dis Sci* 1996; 41:263-271.
4. Stickrod G. Ketamine/xylazine anesthesia in the pregnant rat. *J Am Vet Med Assoc* 1979; 175:952-3.
5. White W, Field K. Anesthesia and Surgery of Laboratory Animals. *Vet Clin N Am* 1987; 17:989-1017.
6. Bland M. An Introduction to Medical Statistics. New York: Oxford University Press, 1995:396.
7. Rudnicki M, McFadden D, Fischer J. A Simple Method for Biliary-enteric Anastomosis and Chronic Bile Diversion in the Rat. *Hepatology* 1991; 14:128-130.
8. Nagai T, Yamakawa T. Experimental Model with Bilioenteric anastomosis in Rats - Technique and Significance. *Hepato-Gastroenterology* 1992; 39:309-313.
9. Wingerd BD. Rat Dissection Manual: The Johns Hopkins University Press, 1988.
10. Clause BT. The Wistar Rat as a Right Choice: Establishing Mammalian Standards and the Ideal of a Standardized Mammal. *J Hist Biol* 1993; 26:329-349.
11. Waynforth HB, Flecknell PA. Experimental and Surgical Technique in the Rat. In: Academic Press, ed. *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. London: Hartcourt Brace & Company, Publishers, 1992:116-117.
12. Lambert R. *Surgery of the Digestive System in the Rat*: Charles C. Thomas, 1965.
13. Chiassom RB. *Laboratory Anatomy of the White Rat*. Dubuque: Brown Company, 1974:81.

14. Yu J, Wang L, Andersson R, Persson B, Bengmark S. New Model of Reversible Obstructive Jaundice in Rats. *Eur J Surg* 1993; 159:163-166.
15. Kuo K, Ker CG, Sheen PC, Wang HJ. Changes of bile duct mucosa after choledochoduodenostomy in rats. *Eur Surg Res* 1996; 28:63-9.
16. Fallon MB, Abrams GA, McGrath JW, Hou Z, Luo B. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome. *Am J Physiol* 1997; 272:G779-84.
17. Swain MG, Tjandra K, Kanwar S, Kubes P. Neutrophil adhesion is impaired in rat model of cholestasis. *Gastroenterology* 1995; 109:923-32.
18. Zimmermann H, Reichen J, Zimmermann A, Sgesser H, Thenisch B, Hoflin F. Reversibility of Secondary Biliary Fibrosis by Biliodigestive Anastomosis in the Rat. *Gastroenterology* 1992; 103:579-589.
19. Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat. *Am J Pathol* 1990; 137:1333-42.
20. Aronson DC, Chamuleau RA, Frederiks WM, Gooszen HG, Heijmans HS, James J. Reversibility of cholestatic changes following experimental common bile duct obstruction: fact or fantasy? *J Hepatol* 1993; 18:85-95.
21. Gyure LA, Hall JG, Lapis K, Timar J. The relief of biliary obstruction in experimental rats by diverting the hepatic lymph into the duodenum. *Int J Exp Pathol* 1991; 72:345-8.
22. Ni Y, Lukito G, G. M, et al. Potential role of bile duct collaterals in the recovery of the biliary obstruction: experimental study in rats using microcholangiography, histology, serology and magnetic resonance imaging. *Hepatology* 1994; 20:1557-66.
23. Aller M, Lorente L, Alonso S, Arias J. A Model of Cholestasis in the Rat Using a Microsurgical Technique. *Scan J Gastroenterol* 1993; 28:10-14.
24. Holmberg J, Hederstrom E, Ihse I. A Method to Prevent Recanalization of the Transected Bile Duct in the Rat. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20:428-432.
25. Clements WD, Parks R, Erwin P, Halliday MI, Barr J, Rowlands BJ. Role of the gut in the pathophysiology of extrahepatic biliary obstruction. *Gut* 1996; 39:587-93.
26. Sekas G. A technique for creating partial obstruction of the common bile duct in the rat. *Lab Anim* 1990; 24:284-7.
27. Carrier N, Connat J. Rat Common Bile Duct: Structure, Pharmacological Responsiveness CGRP Innervation, and Binding Sites. *Gen Comp Endocrinol* 1995; 100:197-200.

28. Berthoud HR, Kressel M, Neuhuber WL. An anterograde tracing study of the vagal innervation of rat liver, portal vein and biliary system. *Anat Embryol (Berl)* 1992; 186:431-42.
29. Suzuki A, Takahashi T, Ishidate T, Kakizaki G. Experimental production of pigment gallstones in rats - with special reference to the effects of diet. *Jpn J Surg* 1980; 10:261-4.
30. Corazza GR, Frazzoni M, Dixon MF, Gasbarrini G. Quantitative assessment of mucosal architecture of jejunal biopsy specimens: a comparison between linear measurement, stereology, and computer aided microscopy. *J Clin Pathol* 1985; 38:765-70.
31. Aire TA. Micro-stereological study of the avian epididymal region. *J Anat* 1979; 129:703-6.
32. Lai HS. Effect of Octreotide on Postoperative Intraoperative adhesions in Rats. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31:678-681.

## APÊNDICE

### CALIBRE DO COLÉDOCO

TABELA 3. MEDIÇÕES NO GRUPO *STRIPPING*

Ratos n°	0-30	30-30	0-60	60-60
1	0,5	0,5	0,5	0,5
2	0,7	0,9	0,5	0,8
3	0,6	0,9	0,6	0,7
4	0,7	0,9	0,5	0,7
5	0,9	1,0	0,6	0,8
6	0,5	0,7	0,6	0,8
7	0,7	0,8	0,5	0,6
8	0,6	0,8	0,5	0,5
9	0,6	0,9	0,4	0,6
10	0,4	0,6	0,6	0,8
Média	0,62	0,84	0,54	0,70
DP	0,14	0,12	0,07	0,11

Valores em mm.

TABELA 4. MEDIÇÕES NO GRUPO *SHAM*

Ratos n°	0-30	30-30	0-60	60-60
1	0,5	0,5	0,5	0,5
2	0,8	0,8	0,4	0,5
3	0,6	0,7	0,5	0,6
4	0,5	0,6	0,6	0,7
5	0,7	0,7	0,6	0,6
6	0,8	0,8	0,8	0,7
7	0,6	0,6	1,0	1,0
8	0,6	0,6	1,1	1,0
9	0,6	0,6	0,6	0,6
10	0,6	0,6	0,6	0,6
Média	0,64	0,66	0,67	0,69
DP	0,10	0,08	0,23	0,17

Valores em mm.