

ANÁLISE HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA COMPARATIVA EM SUÍNOS SUBMETIDOS À OBSTRUÇÃO BILIAR EXPERIMENTAL

Aline Gomes de Campos^{1*}
Edmilson Rodrigo Daneze²
Júverson Alves Terra Júnior³
Sérgio Renato Macedo Chicote¹
Rosana Rosa Miranda Côrrea⁴
Alex Augusto da Silva³
Sílvia Azevedo Terra⁵

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas decorrentes de obstrução biliar induzida em suínos. Para isso, foram utilizados seis suínos da raça Landrace, com 36 dias de idade, nos quais coletou-se sangue nos momentos pré-obstrução e sete dias após a obstrução induzida do ducto colédoco, sendo a mesma realizada pela colocação videolaparoscópica de um clip metálico de titânio. Assim, a ligadura foi realizada com sucesso em todos os animais, sendo fácil a identificação do colédoco por videolaparoscopia e não ocorrendo dificuldades nos procedimentos. Os sinais clínicos indicativos de icterícia foram evidentes no decorrer dos sete dias de obstrução. A análise hematológica revelou uma diminuição nos níveis do volume corpuscular médio e permitiu identificar alterações na morfologia das hemácias; enquanto que os exames bioquímicos revelaram aumento nos níveis séricos de colesterol, GGT, FA, bilirrubina total e frações e, redução na glicemia. Conclui-se que o suíno representa um bom modelo experimental de obstrução biliar, tendo como características evidentes a hiperbilirrubinúria e o aumento dos níveis normais das enzimas hepatobiliares. A GGT demonstrou-se um marcador de maior sensibilidade e especificidade em suínos quando comparada com a FA.

Palavras-chave: contagem de células sanguíneas, bioquímica, icterícia obstrutiva, colestase extra-hepática, laparoscopia

HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY COMPARATIVE ANALYSIS IN SWINES SUBMITTED TO EXPERIMENTAL BILIARY OBSTRUCTION

ABSTRACT

This study aimed to evaluate hematological and biochemical changes resulting from biliary obstruction induced in swines. For this, were used six Landrace swines of 36-day-old, blood were collected in the pre-obstruction and seven days after the induced common bile duct obstruction, which was done through the laparoscopic placement of a titanium metal clip. Thus, the ligation was successfully performed in all animals, being easier to identify the laparoscopic common bile duct and not occurring difficult procedures. The clinical signs of jaundice were evident after seven days of obstruction. The blood analysis revealed a decrease

¹ Professor do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Dr. Francisco Maeda (FAFRAM/FE), Ituverava-SP.

² Aluno do Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária da FAFRAM/FE, Ituverava-SP.

³ Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG.

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Patologia Geral da UFTM, Uberaba-MG.

⁵ Professora do curso de Medicina Veterinária da FAFRAM/FE, Ituverava-SP. *In memoriam*.

*Correspondência: Rodovia Jerônimo Nunes Macedo, km 01, Bairro das Acácias, CEP 14500-000, Ituverava-SP. alineplets@yahoo.com.br.

in the levels of mean corpuscular volume and identified changes in the morphology of red blood cells, whereas the biochemical tests revealed increased serum levels of cholesterol, gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin and fractions and, reduction in blood glucose. It is concluded that the pig is a good experimental model of biliary obstruction, as having the characteristics evident hiperbilirrubinuria and increased normal levels of hepatobiliary enzymes. The gamma-glutamyl transferase proved to be a marker of greater sensitivity and specificity in pigs when compared with the alkaline phosphatase.

Keywords: blood cell count, biochemistry, jaundice obstructive, cholestasis extrahepatic, laparoscopy

ANÁLISIS HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO COMPARATIVO EN CERDOS SOMETIDOS A OBSTRUCCIÓN BILIAR EXPERIMENTAL

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar las alteraciones hematológicas y bioquímicas causadas por la obstrucción biliar inducida en cerdos. Para ello, se utilizaron seis cerdos Landrace, con 36 días de edad. Fueron obtenidas muestras sanguíneas antes y siete días después de la obstrucción inducida del conducto biliar, la misma que se logró con la colocación de un clip metálico de titanio a través de laparoscopia. La ligadura se llevó a cabo con éxito en todos los animales. El conducto biliar común fue fácilmente identificado en la videolaparoscopia y no hubo dificultades para la realización del procedimiento. Signos clínicos como la ictericia fueron evidentes durante los siete días de la obstrucción. El análisis de sangre reveló una disminución en el volumen corpuscular medio y cambios en la morfología de los glóbulos rojos, mientras que las pruebas bioquímicas indicaron aumento de los niveles séricos de colesterol, gammaglutamil transferasa, fosfatasa alcalina, bilirrubina total y sus fracciones, y reducción de la glucosa en la sangre. Se concluye que el cerdo es un buen modelo experimental de obstrucción biliar, con características evidentes como hiperbilirrubinuria y aumento de los niveles normales de enzimas hepatobiliares. La gammaglutamil transferasa demostró ser un marcador de mayor sensibilidad y especificidad en los cerdos, en comparación con la fosfatasa alcalina.

Palabras-clave: contaje de células sanguíneas, bioquímica, ictericia obstructiva, colestasis extra-hepática, laparoscopia

INTRODUÇÃO

Existem diversas condições que, em humanos e animais, podem desencadear obstrução biliar intra e/ou extra-hepática com consequente colestase, sendo a coledocolitíase, as neoplasias e as estenoses as que apresentam maior incidência (1, 2).

Nos últimos anos, houve um aumento na incidência de litíase assintomática, fato devido ao aprimoramento dos métodos diagnósticos realizados rotineiramente pelos pacientes e, ao mesmo tempo, ocorreu a difusão da colecistectomia por via laparoscópica (3-5).

O desenvolvimento e evolução da cirurgia laparoscópica como método de tratamento cirúrgico tem estimulado a realização de técnicas operatórias cada vez mais complexas; exigindo, além de amplo conhecimento anatômico, experiência e um processo de aprendizado que visam diminuir a incidência de complicações operatórias. Dessa forma, a execução de trabalhos experimentais em animais permite aprimorar o conhecimento anatômico e capacitar o cirurgião para intervir nas afecções das vias biliares (6, 7).

No sentido de procurar uma reconstrução anatômica e fisiológica mais adequada para as lesões extensas de vias biliares, foi proposto um estudo para reconstrução da via biliar com a interposição de um “tubo” de segmento de jejuno, à semelhança do que foi utilizado por Monti e colaboradores (8, 9) para drenagem continente de neobexiga. Entretanto, torna-se necessário um modelo experimental que possibilite padronizar um procedimento que crie um estado de icterícia obstrutiva mediante ligadura da via biliar extra-hepática, possibilitando o reconhecimento prévio do sítio cirúrgico e indicando a utilização de técnicas específicas para, num segundo momento, propor a reconstrução desta mesma via.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo induzir um quadro de icterícia obstrutiva em suínos, pela ligadura no ducto colédoco por meio de cirurgia videolaparoscópica utilizando-se clipe metálico de titânio, onde serão descritas e comparadas as alterações observadas nos animais e nos exames hematológicos e bioquímicos antes e após o procedimento obstrutivo, confirmando, assim, o sucesso do procedimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução desse trabalho foram utilizados seis suínos (*Sus scrofa domestica*) da raça Landrace, com 36 dias de idade, originários da mesma matriz. Tais animais foram acompanhados frequentemente, desde o nascimento até a conclusão do estudo.

Momentos antes do procedimento cirúrgico obstrutivo, sob jejum alimentar e hídrico de seis horas, foram coletados 10 ml de sangue de cada animal. Parte desse sangue foi usada para quantificar os seguintes parâmetros hematológicos: contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e *red cell distribution width* (RDW), leucograma (contagem geral e diferenciação entre bastonetes, neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos) e contagem de plaquetas; além da avaliação da morfologia das hemácias presentes no esfregaço sanguíneo. Outra parte foi direcionada a avaliação dos níveis séricos de glicemia, colesterol total, colesterol HDL (*High-Density Lipoprotein*), triglicerídeos, proteína total (PT), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamyltransferase (GGT), bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI) e bilirrubina total (BT).

Os procedimentos pré-operatórios foram comuns a todos os animais. Na recepção cirúrgica foram sedados com acepromazina (0,2 mg/Kg/IM) e, na sequência, submetidos à tricotomia e antisepsia prévia da região abdominal ventral. A indução anestésica foi baseada na associação de tiletamina e zolazepam (5,0 mg/Kg/IV), sendo administrado também fentanil (0,025 mg/Kg/IV) e sulfato de atropina (0,5 mg/Kg/IV); a manutenção anestésica foi com doses de um terço a metade da dose original do anestésico dissociativo. Durante o procedimento cirúrgico os animais foram suplementados com oxigênio via máscara facial.

O procedimento cirúrgico videolaparoscópico¹ consistiu numa incisão mediana pré-umbilical de 1,0 cm, pela qual foi inserida agulha de Verres e realizado pneumoperitônio, com pressão intracavitária de 11 mmHg. Em seguida, foram posicionados quatro trocâteres: (1) dois de 5,0 mm, um localizado na região caudal ao rebordo costal direito e outro ao nível da fossa ilíaca direita, (2) e dois de 10,0 mm, um localizado 1,0 cm pré-umbilical e um caudal ao rebordo costal esquerdo. Após inspeção da cavidade abdominal, foram identificadas, isoladas e dissecadas as estruturas peri-hilares hepáticas e realizada a ligadura laparoscópica do colédoco o mais distal possível. Terminado o procedimento de ligadura, foi revisada a cavidade abdominal, desfeito o pneumoperitônio, seguido de laparorrafia com fio de algodão 2-0 e dermorrafia com mononylon 3-0.

¹ Videolaparoscópio Karl Storz, composto de monitor LCD 15 polegadas, fonte de luz xenon 175 W, insuflador térmico de 30.l e câmera de três chips.

Decorridos sete dias colheu-se nova amostra de 10 ml de sangue para avaliação e comparação e, em seguida, os animais foram encaminhados ao centro cirúrgico (foram utilizados os mesmos protocolos ambulatoriais e anestésicos usados para o procedimento obstrutivo) onde foi realizada laparotomia mediana pré-umbilical para inspeção da cavidade abdominal e desobstrução do fluxo biliar.

Nos períodos pós-operatórios, tanto obstrutivo como desobstrutivo, os animais permaneceram sob cuidados constantes, com acompanhamento da cicatrização das feridas cirúrgicas e administração de anti-inflamatório (Dexametasona, dose de 0,025 mg/Kg/IM/dia), analgésico (Flunixinina meglumina, dose de 2,2 mg/Kg/IM/dia) e antibioticoterapia preventiva (Enrofloxacina, dose de 2,5 mg/Kg/IM/dia).

A análise estatística, para comparação dos valores obtidos nos momentos pré e pós-obstrução, foi realizada utilizando-se o programa *Sigma Stat 2.03*. A verificação da distribuição normal das variáveis foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, na qual as variáveis contínuas com distribuição normal foram analisadas pelo teste *t pareado* para amostras dependentes, sendo estas expressas em média e desvio padrão, admitindo-se como nível de significância probabilidade menor de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

A ligadura da via biliar principal foi realizada com sucesso em todos os animais desse experimento, com fácil identificação do colédoco pela videolaparoscopia. Foram utilizados somente os portais descritos na metodologia, o que ocorreu sem dificuldades.

Os sinais clínicos mais frequentes, após o procedimento de obstrução biliar, foram hiperbilirrubinúria, icterícia, hipocolia fecal e hepatomegalia à palpação. O peso médio dos animais no dia do procedimento obstrutivo era de 9,17 ($\pm 1,69$) kg, ao término do experimento o peso era de 9,42 ($\pm 2,19$) kg.

No esfregaço sanguíneo foi verificado que as hemácias, no momento pré-obstrução, se encontravam normocíticas e normocrômicas, enquanto no período de pós-obstrução estas se apresentaram com hipocromia, policromasia, microcitose e anisocitose. A análise hematológica revelou uma diminuição significativa nos níveis de VCM e no valor do hematócrito, enquanto que houve aumento no número de neutrófilos; nos demais parâmetros não houve alterações significativas (Tabela 1). Os exames bioquímicos revelaram aumento significativo dos níveis séricos de colesterol, GGT, FA, BD, BI e BT e, redução na glicemia; os demais parâmetros não apresentaram alterações significativas (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Utilizou-se o suíno (*Sus scrofa domestica*) como modelo experimental por ser animal com boa possibilidade de padronização e, também, por se tratar de animal tratável, controlável, resistente e de fácil manejo. O suíno é considerado um modelo adequado para as doenças ligadas ao estilo de vida humano, apresentando similaridades como tamanho, estrutura de órgãos internos, padrões alimentares, forma de metabolizar drogas (10-13). Dessa forma, sugerimos a utilização deste animal para diversos experimentos que necessitam de padronização genética e similaridade anatômica e fisiológica.

Utilizou-se a videolaparoscopia por ser a técnica mais empregada e considerada padrão ouro para o acesso e tratamento de afecções das vias biliares (7, 14, 15), principalmente devido ao baixo índice de complicações e vantagens como menor dor pós-operatória, menor tempo de internação, melhores resultados estéticos (16), a despeito de ser invasiva (17, 18). A não ocorrência de dificuldades é associada a maximização das imagens proporcionada pelos monitores de vídeo, permitindo definir o lugar exato de ação, proporcionando intervenções

seguras em estruturas vitais (7, 17, 19). Nas condições em que o experimento foi realizado, aconselhamos o uso, sempre que possível, da técnica de videolaparoscopia para diminuir o trauma pós-operatório, focando apenas no real objetivo do estudo.

Tabela 1. Hemograma completo comparativo de suínos avaliados nos períodos pré e pós-obstrução biliar induzida. FAFRAM/FE. Ituverava, 2010.

Parâmetros avaliados	Pré-obstrução	Pós-obstrução	Teste t pareado	p
Eritrócitos ($\times 10^6$) (5,0-8,0/ μ l)*	5,728 \pm 0,280	5,178 \pm 0,746	2,305	0,069
Hemoglobina (10-16 g/dl)*	10,067 \pm 0,524	8,850 \pm 1,086	2,486	0,055
Hematócrito (%) (32-50%)*	33,983 \pm 1,680	29,433 \pm 4,080	2,642	0,046**
HCM (16-220 pg)*	17,583 \pm 0,845	17,167 \pm 0,565	1,697	0,150
VCM (50-68 pg)*	59,383 \pm 2,289	56,850 \pm 1,851	2,985	0,031**
CHCM (30-34 g/dl)*	29,133 \pm 1,325	30,133 \pm 0,869	-1,678	0,154
RDW-SD	34,767 \pm 2,884	33,867 \pm 1,728	0,973	0,375
Leucócitos ($\times 10^3$) (11-12/ μ l)*	15,033 \pm 4,143	15,317 \pm 6,567	-0,0808	0,939
Neutrófilos (3.200-10.000/ μ l)*	6508,833 \pm 2581,490	1089,333 \pm 2314,601	3,629	0,015**
Linfócitos (39-62%)*	51,833 \pm 9,109	48,333 \pm 21,796	0,394	0,709
Monócitos (2-10%)*	3,500 \pm 1,643	5,000 \pm 1,265	-1,419	0,215
Eosinófilos (1-11%)*	1,833 \pm 1,722	1,333 \pm 0,816	0,808	0,456
Plaquetas ($\times 10^3$) (200-800/ μ l)*	584,833 \pm 145,376	794,167 \pm 236,526	-2,108	0,089

*Valores de referência dos parâmetros avaliados. **p<0,05.

Tabela 2. Bioquímica sérica comparativa de suínos nos períodos pré e pós-obstrução biliar induzida. FAFRAM/FE. Ituverava, 2010.

Parâmetros avaliados	Pré-obstrução	Pós-obstrução	Teste t pareado	p
Glicemia (85-150 mg/dl)*	126,833 \pm 27,513	99,833 \pm 8,931	2,824	0,037**
Colesterol (36-154 mg/dl)*	52,000 \pm 11,349	78,833 \pm 15,980	2,486	0,001**
HDL	16,333 \pm 3,204	14,500 \pm 4,183	2,642	0,274
Triglicerídeos	33,833 \pm 11,125	62,667 \pm 47,928	1,697	0,177
AST (8,2-21,6 UI/l)*	59,500 \pm 26,334	98,833 \pm 43,879	-2,045	0,096
ALT (31-58 UI/l)*	63,000 \pm 17,956	52,833 \pm 13,949	1,441	0,209
PT (7,4-8,9 g/dl)*	4,717 \pm 0,319	4,750 \pm 0,383	-0,213	0,840
FA (118-395 UI/l)*	337,167 \pm 45,252	323,500 \pm 60,843	1,385	0,225
GGT (10-60 UI/l)*	38,167 \pm 14,552	113,500 \pm 47,970	-3,052	0,028**
BD (0-0,3mg/dl)*	0,0500 \pm 0,0548	1,233 \pm 0,954	-3,108	0,027**
BI (0-0,3mg/dl)*	0,150 \pm 0,0837	1,167 \pm 0,997	-2,577	0,050**
BT (0-0,6mg/dl)*	0,200 \pm 0,126	2,400 \pm 1,919	-2,882	0,035**

*Valores de referência dos parâmetros avaliados. **p<0,05.

Ao analisar os valores hematológicos, verificou-se diferença na morfologia das hemácias, diminuição do hematócrito e do VCM, o que pode ser atribuído à hepatite, ou ao comprometimento renal desses animais, causando alterações na eritropoetina, já que a disfunção hepática pode acarretar modificações na filtração (20, 21) e levar à disfunção renal (22, 23). Existem evidências experimentais de que o fígado exerce função reguladora da função renal (24). Acredita-se que a bilirrubina em níveis elevados compromete além da função hepática, a função endócrina renal, já que este também estava acometido pela icterícia.

Embora a icterícia obstrutiva seja um fator predisponente para infecção no período pós-operatório, não houve diferença significativa na contagem de leucócitos. Sendo que, em animais icterícos, tais infecções podem ser secundárias a repercussões sistêmicas causadas por procedimentos cirúrgicos (25). No entanto, a quantidade de neutrófilos presentes pode ser decorrente do processo inflamatório no tecido hepático decorrente do procedimento cirúrgico,

além da resposta a necrose desse tecido. Processos inflamatórios desencadeiam, dentre outros fenômenos, exsudação plasmática e celular, sendo que nas infecções agudas, ocorrem mobilização rápida de células em maturação e seu lançamento na circulação, ainda jovens, ocasionando desvio à esquerda (26, 27). Assim, acredita-se que o intervalo de sete dias, não foi suficiente para desencadear um aumento de leucócitos, já que a icterícia retarda este processo, tendendo este número a se elevar em um período maior.

Ao se avaliar os níveis de glicemia, esta apresentou menor índice no momento pós-obstrução, podendo isso ser decorrente da obstrução biliar, já que alguns autores demonstraram alterações no metabolismo intermediário hepático em casos de icterícia obstrutiva extra-hepática (28). O fígado tem participação importante no metabolismo de glicose, sendo os hepatócitos responsáveis pela normalidade do nível ideal sanguíneo, sendo que, em animais com insuficiência hepática, a glicemia pode estar baixa ou alta (29, 30). Fisiologicamente, quando os níveis de glicose estão baixos, ocorre glicogenólise (31), contudo, devido à menor atividade dos hepatócitos, decorrente da colestase instalada, tal processo pode estar comprometido.

Mesmo não apresentando diferença significativa, houve aumento dos níveis de AST no período pós-obstrução, indicando maior agressão hepática decorrente da associação dos efeitos das substâncias químicas e da colestase. Segundo González e Silva (32), os aumentos de AST podem ser observados em hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução biliar e fígado gorduroso e tem valor diagnóstico de lesão hepática e muscular, pois encontra-se em nível citoplasmático e mitocondrial. Lesões celulares a nível mitocondrial com extravasamento de suas enzimas para o meio extracelular são marcadores de gravidade, correspondendo a morte celular. Na avaliação histopatológica, estes animais apresentaram discreta esteatose e cirrose inicial, o que pode estar relacionado ao aumento do nível de AST.

Os índices de ALT, mesmo estando em menor nível após a obstrução do colédoco, não apresentaram diferença significativa, o que corrobora com autores que demonstraram que em suínos, equinos, bovinos, ovinos e caprinos, a ALT tem pouco valor diagnóstico, uma vez que esta enzima é encontrada em pequenas concentrações no fígado destas espécies (32, 33). Desta forma, sugere-se que a ALT não seja considerada como fator diagnóstico de lesão hepatocelular em suínos.

A FA e a GGT são as enzimas cujo aumento sérico é utilizado para detectar lesão ductal e colestase (30, 34). Crema, Trentini e Llanos (35), ao realizarem ligadura biliar em cães, encontraram níveis séricos médios de FA elevados no decorrer de uma semana. Dias (36), em experimento com 20 dias de obstrução biliar induzida em ratos, descreve que a FA dos animais aumentou gradativamente com o passar dos dias. Em humanos, a FA é um dos marcadores séricos mais sensíveis em casos de obstruções biliares, podendo estar aumentada precocemente em pacientes com obstruções biliares parciais (37) e ser a única anormalidade nas provas de função hepática rotineira (38). Contudo, Willard, Tvedten e Turnwald (39), relatam que nem toda hepatopatia causa um aumento significativo da FA e que, nos casos de necrose hepatocelular em pequenos animais, a sua elevação pode ser transitória, o que pode ter ocorrido com os animais estudados ou, ainda, o tempo do estudo não ter sido suficiente para averiguar sua elevação.

Com relação à avaliação dos níveis de GGT, este mostrou diferença significativa, estando elevada no período pós-obstrutivo. Essa enzima, com exceção das células musculares, encontra-se presente nas demais células do organismo. Contudo, sua maior atividade está nas células do trato biliar e túbulos renais, mas somente aquela de origem hepática é normalmente encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada na urina (33). Assim sendo, torna-se um marcador muito sensível de doença hepática, apresentando-se alterada em 90% dos casos (34). O aumento da GGT pode ocorrer quando há lesão hepática aguda, provocando aumento sérico imediato na maioria das espécies animais (40), possivelmente em decorrência da

liberação de fragmentos de membrana celular devido a ação detergente dos ácidos biliares que não foram excretados normalmente pelos ductos biliares no intestino. No caso de colestase, nota-se aumento de produção, liberação e consequente elevação sérica (30). A dilatação dos ductos biliares intra-hepáticos devido à obstrução biliar aumenta os níveis da pressão portal depois dos sinusóides, isso favorece a diminuição do fluxo sanguíneo portal, causando estresse oxidativo e favorecendo a lesão de hepatócitos (36, 41). Fato esse que pode explicar a diferença significativa entre o momento pré e pós-obstrução de GGT dos animais deste experimento, estando este acima dos níveis considerados normais para a espécie durante o período pós-obstrutivo, podendo ser considerado como fator de diagnóstico em suínos.

Em felinos, o perfil sérico da GGT pode ser utilizado no lugar da FA com maior sensibilidade e especificidade (33, 40). Contudo, em ratos, Silva Júnior et al. (42) refere que o nível sérico de GGT é pouco sensível como indicador da colestase extra-hepática e que a enzima ideal para isso é a FA. Em suínos, a elevação sérica da GGT foi encontrada em casos de intoxicação por aflatoxicose (43) ou por fumonisinas (44, 45), que são micotoxinas hepatotóxicas. Assim, mediante os valores de FA e GGT encontrados, acredita-se que a GGT também possa ser de maior valor diagnóstico/prognóstico que a FA em suínos.

Alterações hepatocelulares ou obstruções biliares podem incidir no metabolismo da bilirrubina e provocar hiperbilirrubinemias, por conta da fração conjugada (direta) ou não conjugada (indireta), dependendo da fase metabólica comprometida (30, 34). Assim, níveis elevados de BD geralmente indicam obstrução biliar (46, 47). Dias (36), trabalhando com ratos, descreve que a BD aumentou em todos os animais após 20 dias de obstrução biliar induzida. Nos animais do presente trabalho os níveis séricos da bilirrubina total (BT) e suas frações apresentaram diferença significativa, estando todas elevadas no período pós-operatório (30, 48). Assim, após sete dias de obstrução, os animais desenvolveram a icterícia, com valores elevados e em tempo menor do que referido por outros autores estudando outras espécies animais (41, 49), diminuindo assim o tempo de estudo, apresentando resultados em um tempo menor.

A indução experimental da colestase extra-hepática é um processo que nem sempre tem sucesso (36, 41). Porém, após sete dias de obstrução os animais desenvolveram sinais clínicos compatíveis com os que foram encontrados em outros casos envolvendo colestase em humanos (16, 50, 51), cães (35, 52) e ratos (41, 53), pois o desenvolvimento da icterícia justifica as alterações de coloração de pele e mucosas observadas, pois a bilirrubina em concentrações elevadas deposita-se nos tecidos (52, 54). A coloração característica da urina também é associada ao aumento na concentração de bilirrubina na circulação sanguínea, que é excretada ao passar pelos glomérulos renais, sendo essa alteração indicativa de colestase (30, 55), o que também foi corroborado com os achados deste trabalho.

A elevação das dosagens séricas de BD, BI e BT, assim como da GGT, são comumente encontradas quando há ocorrência de colestase, cujo aumento é induzido pela estase biliar (30, 35), e possuem relevante valor diagnóstico nos doentes com estase biliar com ou sem icterícia (56), inclusive em suínos (57). Contudo, Cunha et al. (56), salientam que a coledocolitíase pode existir em pacientes humanos com níveis persistentemente normais de FA, GGT e de bilirrubinas, principalmente nos casos de grande dilatação coledociana e da vesícula biliar. Gonçalves et al. (58) relataram o caso de um cão com quadro clínico complexo em que os exames bioquímicos séricos, incluindo BT, BD, BI e FA, associado a exames ultrassonográficos, foram fundamentais para o diagnóstico final de colelitíase. Por isso, em casos questionáveis, que necessitem de informações mais acuradas ou para diagnóstico diferencial, os exames laboratoriais devem ser correlacionados com as condições clínicas apresentadas pelo paciente e com exames de imagem (46, 56, 59), podendo, ainda, em alguns casos, ser solicitada biópsia para avaliação histopatológica (60).

CONCLUSÕES

Nas condições em que o experimento foi conduzido, conclui-se que o estudo laboratorial demonstrou que o procedimento de ligadura da via biliar foi efetivo, produzindo um modelo animal que apresentou os sinais clínicos característicos de icterícia em sete dias. A colestase induzida provocou aumento nos níveis plasmáticos de glicemia, colesterol total, bilirrubina total e suas frações e de gama-glutamyltransferase. Particularmente, a gama-glutamyltransferase demonstrou ser um marcador de maior sensibilidade e especificidade que a fosfatase alcalina em suínos.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Dr. Francisco Maeda sob o protocolo nº 19/2008, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotados pelo comitê.

REFERÊNCIAS

1. Carrel T, Lerut J, Niederhauser U, Schweizer W, Blumgart LH. Diagnosis and treatment of traumatic injuries of the duodenum and pancreas: 21 cases. *J Chir.* 1990;127(10):438-44.
2. Dähnert W. Radiologia: manual de revisão. 3ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.485-92.
3. Rauws EA, Gouma DJ. Endoscopic and surgical management of bile duct injury after laparoscopic cholecystectomy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004;18(5):829-46.
4. Sekido H, Matsuo K, Morioka D, Kunihiro O, Tanaka K, Endo I, et al. Surgical strategy for the management of biliary injury in laparoscopic cholecystectomy. *Hepatogastroenterology.* 2004;51(56):357-61.
5. Schmidt SC, Langrehr JM, Schumacher G, Neuhaus P. Treatment of iatrogenic bile duct lesions from laparoscopic cholecystectomy. *Rozhl Chir.* 2005;84(11):567-72.
6. Hurtado JRE, Goldenberg S, Novo NF, Juliano Y, Escalante RD. Estudo anatômico das vias bilíferas extra-hepáticas no suíno: comparação entre a dissecação convencional e por videolaparoscopia. *Acta Cir Bras.* 1997;12(3):198-205.
7. Machado MAC, Machado MCC. Colecistite crônica claculosa. In: Moraes IN. Tratado de clínica cirúrgica. São Paulo: Roca; 2005. p.1277-83.
8. Monti PR, Carvalho JR, Arap S. The Monti procedure applications and complications. *Urology.* 2000;55(5):616-21.
9. Monti PR, Lara RC, Dutra MA, Carvalho JR. New techniques for construction of efferent conduits based on the mitrofanoff principle. *Urology.* 1997;49(1):112-5.
10. Almond GW. Research applications using pigs. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996;12(3):707-16.

11. Heltne JK, Husby P, Koller ME, Lund T. Sampling of interstitial fluid and measurement of colloid osmotic pressure (COPi) in pigs: evaluation of the wick method. *Lab Anim.* 1998;32(4):439-45.
12. Goodrich JA, Lackland DT, Del Signore MJ, Swindle MM. Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation. *Comp Med.* 2001;51(1):13-5.
13. Mariano M. Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental: o Minipig br1. *Acta Cir Bras.* 2003;18(5):387-91.
14. Silva MHG. Estudo da lesão iatrogênica maior da via biliar na era da colecistectomia videolaparoscópica [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 2001.
15. Goffi FS, Goffi Junior PS, Sorbello AA. Colecistectomia. In: Goffi FS. Técnica cirúrgica: bases anatômicas, fisiopatológicas e técnicas da cirurgia. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2006. p.691-8.
16. Goldenberg A, Matone J, Gonzalez AM, Torrez FRA. Colecistopatia crônica calculosa. In: Lobo EJ, Lopes Filho GJ, Del Grande JC, Trivino T. Guia de gastrocirurgia. Barueri/SP: Manole; 2008. p.273-93.
17. Goldenberg S, Tonini K, Goldenberg A. A vídeo-cirurgia e a cirurgia experimental. In: Margarido NF, Saad Júnior R, Ceconello I, Martins JL, Paula RA. Videocirurgia. São Paulo: Colégio Brasileiro de Cirurgões; 1994. p.131-8.
18. Zantut LFC. Laparoscopia no diagnóstico do abdome agudo. In: Zilberstein B, Ceconello I, Felix VN, Pinotti HW. Infecção em cirurgia do aparelho digestivo. São Paulo: Robe Editorial; 1994. p.171-81.
19. Engler-Pinto Júnior P, Arab-Fadúl R, Bresciane C, Sobreira R, Souza LJ, Gama-Rodrigues J. Diagnóstico videolaparoscópico de agenesia da vesícula biliar em paciente adulto sintomático. *An Paul Med Cir.* 1996;123(1):29-33.
20. St-Pierre MV, Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Meier PJ. Transport of bile in hepatic and non-hepatic tissues. *J Exp Biol.* 2001;204(10):1673-86.
21. Denk GU, Cai SY, Chen WS, Lin A, Soroka CJ, Boyer JL. A comparison of gene expression in mouse liver and kidney in obstructive cholestasis utilizing high-density oligonucleotide microarray technology. *World J Gastroenterol.* 2006;12(16):2536-48.
22. Dagher L, Moore K. The hepatorenal syndrome. *Gut.* 2001;49(5):729-37.
23. Cárdenas A. Hepatorenal syndrome: a dreaded complication of end-stage liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(2):460-7.
24. Lang F, Tschernko E, Häussinger D.. Hepatic regulation of renal function. *Exp Physiol.* 1992;77(5):663-73.

25. Lima DX. Efeito da icterícia obstrutiva na morfologia e função renal após nefrectomia em rato [tese]. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
26. Brasileiro Filho G. *Bogliolo patologia*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
27. Contran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins: patologia estrutural e funcional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p.44-100.
28. Roselino JE, Silva Junior OC, Ceneviva R. Lack of control of liver gluconeogenesis in cholestatic rats with reduced portal blood flow. *Hepatology*. 1992;16(4):1055-60.
29. Coles EH. *Patologia clínica veterinária*. 3ª ed. São Paulo: Manole; 1994. p.185-219.
30. Thrall MA. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca; 2007.
31. Hardikar W, Suchy FJ. Hepatobiliary function. In: Boron WF, Boulpaep EL. *Medical physiology*. Philadelphia: WB Saunders; 2003. p.975-1002.
32. Gonzalez FHD, Silva SC. *Introdução a bioquímica clínica veterinária*. Porto Alegre: UFRGS; 2006.
33. Kramer JW, Hoffmann WE. Clinical enzymology. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ª ed. San Diego: Academic Press; 1997. p.303-25.
34. Jorge SG. Exames laboratoriais [Internet]. Campinas-SP; 2006 [acesso em 2010 Nov 06]. Disponível em: <http://hepcentro.com.br/exames.htm>
35. Crema E, Trentini EA, Llanos JC. Proposal of a new technique for bile duct reconstruction after iatrogenic injury: study in dogs and review of the literature. *Acta Cir Bras*. 2007;22(3):162-7.
36. Dias MA. Alterações histológicas do fígado, do fluxo portal e do óxido nítrico na obstrução/desobstrução biliar [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2006.
37. Ahrendt AS, Pitt HA. Vias biliares. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Tratado de cirurgia: a base biológica da prática cirúrgica moderna*. 17ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p.1597-641.
38. Greenberger NJ, Paumgartner G. Doenças da vesícula biliar e dos ductos biliares. In: Fauci AS, Kasper DL. *Harrison: medicina interna*. 15ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 2001. p.1882-94.
39. Willard M, Tvedten H, Turnwald GH. *Diagnóstico clinicopatológico práctico en los pequeños animales*. Buenos Aires: Inter-Médica; 2004.

40. Center AS, Hornbuckle WE, Hoskins JD. O fígado e o pâncreas. In: Hoskins JD. *Pediatria veterinária: cães e gatos do nascimento aos seis meses*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interlivros; 1997. p.172-204.
41. Prado IB, Santos MHH, Lopasso FP, Iriya K, Laudanna AA. Cholestasis in a murine experimental model: lesions include hepatocyte ischemic necrosis. *Rev Hosp Clin Fac Med Univ São Paulo*. 2003;58(1):27-32.
42. Silva Júnior OC, Coelho AFB, Souza MEJ, Picinato MANC, Franco CFF, Vanni JC, et al. Sensibilidade da fosfatase alcalina e da gama-glutamyltransferase como indicadores da obstrução biliar extra-hepática induzida em ratos. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 1993;26(1):41-4.
43. Zlotowski P, Corrêa AMR, Rozza DB, Driemeier D, Mallmann CA, Migliavacca FA. Surto de aflatoxicose em suínos no Estado do Rio Grande do Sul. *Pesqui Vet Bras*. 2004;24(4):207-10.
44. Pozzi CR, Arcano JRP, Arcano Júnior I, Fagundes H, Corrêa B. Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação de fumonisinas. *Cienc Rural*. 2002;32(5):901-7.
45. Leal PC, Cantanhede KL, Silva LM, Bezerra GFB, Viana GMC, Nascimento MDSB. Micotoxinas do *Fusarium* e seu potencial carcinogênico. *NewsLab*. 2005;70:76-88.
46. Doherty GM, Way LW. Trato biliar. In: Way LW, Doherty GM. *Cirurgia: diagnóstico e tratamento*. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.495-519.
47. Teixeira LV. Metabolismo do grupo heme [Internet]. Porto Alegre-RS; 2010 [acesso em 2010 Nov 06].. Disponível em: http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/heme_luciele.pdf
48. Meyer DJ, Coles EH, Rich LJ. *Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico*. São Paulo: Roca; 1995.
49. Jorge GL, Leonardi LS, Boin IFSF, Silva Júnior OC, Escanhoela CAF. Novo modelo experimental de obstrução biliar em ratos Wistar. *Acta Cir Bras*. 2001;16(2):75-81.
50. Aguiar GB, Oliveira CIB, Sousa e Silva Júnior JB, Santos LS, Vieira SC. Lesão iatrogênica de vias biliares. *Rev Col Bras Cir*. 2005;32(2):69-73.
51. Marotta A. Validação do método de mensuração da pressão intravesical como indicador da pressão intra-abdominal durante colecistectomia videolaparoscópica em pacientes adultos portadores de litíase vesicular [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 2006.
52. Rothuizen J. Icterícia. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.218-20.

53. Tomasich FDS, Dias AA, Simões MLPB, Pacheco AM, Costa PB, Piechnik J. Modelo experimental de icterícia obstrutiva: avaliação por meio da bioimpedância. *Rev Col Bras Cir.* 2006;33(1):15-8.
54. Silva Júnior OC, Ceneviva R, Rizzo CC, Sankarankutty AK, Granato RG, Menegazzo LAG. Alterações hepáticas na icterícia obstrutiva. *Medicina (Ribeirão Preto).* 1997;30(1):165-72.
55. Garcia-Navarro CEK. Manual de urinálise veterinária. São Paulo: Varela; 2005.
56. Cunha JEM, Bacchella T, Machado MCC, Penteadó S, Jukemura J. Coledocolítiase. In: Gayotto LCC, Alves VAF. Doenças do fígado e vias biliares. São Paulo: Atheneu; 2001. p.1075-86.
57. Melges Júnior AM. Efeitos da drenagem biliodigestiva transpapilar ou extrapapilar sobre o sistema hepatobiliar de cães [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo; 2000.
58. Gonçalves GF, Acco A, Sanches AW, Romagnoli P, Ribeiro EA, Cunha CG. Cálculo biliar em cães: relato de casos. *Arq Cienc Vet Zool Unipar.* 2004;7(2 Supl):32.
59. Nyland TG, Mattoon JS, Herrgesell EJ, Wisner ER. Fígado. In: Nyland TG, Mattoon JS. *Ultra-som diagnóstico em pequenos animais.* 2ª ed. São Paulo: Roca; 2005. p.95-130.
60. Gunderman RB. Fundamentos de radiologia: apresentação clínica, fisiopatologia, técnicas de imagens. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.

Recebido em: 16/01/2012

Aceito em: 27/11/2012