



## ALTERAÇÕES NUTRICIONAIS E CLÍNICAS DURANTE A CIRROSE BILIAR INDUZIDA PELA LIGADURA E RESSECÇÃO DO DUCTO BILIAR COMUM

Luciana Bertelli Roseiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduanda do Departamento de Nutrição/Centro de Ciências da Saúde - Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru/SP – r.lucianabertelli@hotmail.com

### RESUMO

Cirrose Biliar Hepática é uma patologia caracterizada pela substituição de hepatócitos por fibrose, provocando alterações na estrutura hepática, gradativamente. Uma das principais causas de cirrose biliar é atresia de vias biliares extra-hepática (AVBEH), doença que acomete crianças no primeiro ano, quando não tratada leva à mortalidade. A mesma causa alterações clínicas e nutricionais dificultando transplante hepático. A colestase é uma das características mais relevantes da doença, levando ao dano hepático progressivo, alterando metabolismo, armazenamento e distribuição de nutrientes, causando má absorção de gorduras, ácidos graxos essenciais (AGE) e vitaminas lipossolúveis. Técnicas experimentais são utilizadas para reproduzir características clínicas da AVBEH em animais, destacando-se a cirurgia de ligadura e ressecção do ducto biliar comum (LRDBC), com objetivo de simular a cirrose biliar extra-hepática; identificar características clínicas e nutricionais da colestase, avaliar estado nutricional, consumo de ração; alterações funcionais de hepatócitos e identificar alterações clínicas. Foram estudados 20 ratos, divididos em 2 grupos de 10 animais cada: grupo controle (G1) e grupo experimental (G2), sendo do G2 submetidos à técnica cirúrgica de LRDBC, acompanhados durante 21 dias e após eutanásia, realizado exames de ALT e AST para avaliação da função hepática. Em relação ao consumo de ração, o G2, que consequentemente desenvolveram cirrose biliar, apresentaram diferença estatisticamente significativa comparada com G1, com baixa ingestão. Valores de ALT e AST no G2 foram estatisticamente maiores comparados com o G1, além de outras alterações. Conclui-se que a técnica de LRDBC pode ser utilizada como modelo fiel simulando a AVBEH, podendo estudar alternativas para recuperação do estado nutricional desses pacientes.

**Palavras-chave:** Obstrução das Vias Biliares Extra-hepática; Colestase; Cirurgia de Ligadura; ressecção de Ductos Biliares.

### INTRODUÇÃO

A Cirrose Hepática é uma patologia que tem como característica a substituição do tecido hepático funcional por tecido fibroso, essa mudança pode ocorrer de forma lenta e gradativa, provocando assim alterações na estrutura do fígado, tendo como consequência a perda ou diminuição das funções hepáticas. Apesar dos fatores etiológicos envolvendo tanto adultos quanto pacientes pediátricos variarem, todos resultam no mesmo processo de fibrose hepática (MEYER, 2014).

Dentre os fatores etiológicos da cirrose biliar crônica em pacientes pediátricos destaca-se a atresia de vias biliares extra-hepática (AVBEH). É denominada como uma obstrução dos ductos biliares, de caráter progressivo, levando à colestase, icterícia, cirrose biliar, insuficiência hepática e podendo chegar até a óbito, em geral até 3 ou 4 anos. Embora o processo se inicie, na maioria das vezes, no período neonatal, várias evidências demonstram não se trata de problema congênito (TANNURI, 1996).

A deterioração das funções hepáticas durante a AVBEH aumenta com o avanço da doença, gerando prejuízos ao organismo e colocando em risco a vida do paciente. O desenvolvimento da fibrose e da insuficiência hepática crônica (IHC) provocada pela AVBEH varia conforme o grau de intensidade e da velocidade do desenvolvimento, o que depende do grau e das características da obstrução biliar. (GIBELLI, 2003).

A IHC é definida como falência total do fígado, devido à agressões contínuas ao parênquima hepático, ocasionada em recém-nascidos pela ocorrência de obstrução crônica durante a AVBEH. Quando não tratada a AVBEH apresenta uma mortalidade de 100% (BALISTERI et al., 2001), além de ser a indicação mais frequente de transplante hepático.

A AVBEH constitui a principal causa de colestase crônica na infância (TANNURI, 1996). A colestase refere-se à diminuição ou parada do fluxo biliar por alterações na produção ou no transporte de bile até o duodeno. Sua importância é acentuada pela alteração morfofuncional do fígado e pela sua rápida progressão para a fibrose com presença de nódulos hepáticos (BALIESTERI et al., 2001), levando, desta forma, às alterações de crescimento e desenvolvimento como consequência do prejuízo nutricional ( BLOMSMA et al., 1997).

Estudos experimentais em animais de laboratório que simulam colestase humana têm sido cada vez mais úteis na elucidação de diferentes etapas da patogênese da colestase e na busca de novas alternativas para amenizar as alterações clínicas e nutricionais do paciente (BATTOCHIO et al., 2004). Várias técnicas para o desenvolvimento da cirrose biliar causada pela AVBEH têm sido descritas baseadas em: obstrução aguda e completa do ducto biliar comum (CAMERON; OAKLEY, 1932); colestase induzida por endotoxinas e estinilestradiol (ARRESE et al., 2001); colestase por clopromazina (AKERBOOM et al., 1991) e colestase por imunodeficiência.

A ligadura e ressecção do ducto biliar comum (RDBC) em modelo animal é o método mais indicado para o estudo da colestase obstrutiva crônica. Nesse modelo experimental ocorre proliferação de ductos biliares, em intensidade maior do que a vista em humanos, fibrose e infiltrado inflamatório. Esse modelo também pode ser utilizado como modelo experimental de alterações nutricionais (BRUHA et al., 2012).

## **METODOLOGIA**

### **Delineamento experimental**

Foram avaliados 20 ratos machos da raça Wistar, com aproximadamente 45 dias, pesando aproximadamente 80g. Os ratos foram fornecidos pelo biotério da Universidade Sagrado Coração – USC e foram mantidos em gaiolas de polietileno, mantidos sob o controle de temperatura de 22 ° C a 23 ° C, e ciclo claro e escuro de 12h. A pesquisa foi desenvolvida após a avaliação e o aceite da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sagrado Coração. Os animais foram divididos de forma aleatória em dois

grupos de 10 animais cada, sendo o grupo 01 (G1) controle em que receberam água e ração diariamente de forma *ad libitum* durante 21 dias, e grupo 2 (G2) grupo experimental em que os animais foram submetidos à cirurgia de ligadura e ressecção do ducto biliar comum, recebendo água e ração diariamente de forma *ad libitum* durante 21 dias.

## **Medidas a serem realizadas durante o experimento**

### **Ganho de peso**

Os animais foram pesados no primeiro dia do experimento posteriormente após uma semana até completar 21 dias de tratamento e o peso do último dia de experimento foi utilizado para encontrar o ganho de peso (ganho de peso foi obtido pela subtração peso final - peso inicial).

### **Ração ingerida**

A ração ingerida em gramas é determinada diariamente pela diferença entre o peso da ração oferecida (g) e o peso da ração rejeitada (g), do primeiro ao último dia do experimento.

### **Alterações Clínicas**

As alterações clínicas dos animais foram avaliadas através da pelagem, da pigmentação da urina e das esclerótidas e do comportamento diariamente durante todo o experimento (21 dias).

### **Eutanásia**

No 21<sup>o</sup> dia após a ligadura e ressecção do ducto biliar comum os animais foram submetidos a eutanásia através de pulsão cardíaca posterior a anestesia. A eutanásia foi provocada com dose letal de Cloridrato de Cetamina (100mg/kg) e Cloridrato Xilazina (10mg/Kg), por via intraperitoneal. Foi separado o sangue para realização de exames bioquímico.

### **Exames bioquímicos**

O sangue foi enviado ao Laboratório de Análises e Pesquisas Clínicas da Policlínica Madre Rosália Sosso da Universidade do Sagrado Coração/USC – Bauru/SP, para a realização das enzimas hepáticas AST e ALT.

## **RESULTADOS**

### **Variação ponderal e consumo de ração total**

#### **Ganho de peso**

Com relação ao ganho de peso total (GPT) foi possível observar uma redução estatisticamente significativa do ganho de peso no grupo com cirrose biliar (G2) ( $p=0,01$ ), uma vez que a média do G1 foi de 20,03g e do G2 foi de 10,10g.

#### **Consumo de Ração**

Com relação ao consumo de ração foi possível observar que os animais que foram submetidos ao procedimento cirúrgico e conseqüentemente desenvolveram a cirrose biliar experimental (G2), apresentaram uma diferença estatisticamente significativa quando

comparada com o grupo controle. O consumo médio de ração do G1 foi de 735g durante os 21 dias de experimento, já o G2 apresentou um consumo médio de 489g.

Uma das complicações mais importantes da doença hepática crônica é desnutrição proteico-energética (BRUHA et al., 2012). Em se tratando de uma doença colestática, principalmente na cirrose biliar por AVBEH, essa desnutrição se intensifica, visto que além de apresentar toda etiologia da desnutrição por diminuição do aporte dietético, aumento das perdas de nutrientes e alterações na utilização do substrato e gasto energético, apresenta ainda uma grave má absorção de lipídios, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, decorrente do quadro grave de colestase. (BALISTRERI, 2005).

A diminuição da ingestão alimentar, aporte dietético, caracterizado pela anorexia, pode ser decorrente do aumento dos níveis circulantes de potentes hormônios anoréxicos: colecistoquinina (CCK) e leptina (ALEMAN et al., 2002). Seus mecanismos de ação derivam-se de: a) A CCK e a leptina agem no núcleo central de saciedade inibindo o apetite e b) A CCK está envolvida na diminuição da concentração de ácidos gástricos prejudicando, desta forma, o esvaziamento gástrico.

A diminuição da massa muscular pode ser decorrente da diminuição da síntese proteica como consequência da diminuição hepática do fator de crescimento semelhante à insulina – IGF-1 (*insulin-like growth factor-I*) (AN et al., 2001). O IGF e o Hormônio de crescimento (GH) são importantes para o crescimento e desenvolvimento modulando o metabolismo de proteínas, lipídios e carboidratos (BLOMSMA et al., 1997). A resistência ao GH está relacionada com o estímulo à lipólise e perda dos estoques de gordura, além de estar relacionada com o déficit de crescimento (BUCUVALAS et al., 1999). Associado a esses fatores, segundo Bavdekar et al. (2002), o aumento do gasto energético, que é 30% mais elevado durante a AVBEH, contribui para a utilização de proteína em forma de energia.

Santos et al. (2007), estudando as alterações nutricionais e hepáticas após a indução da cirrose biliar por LRDBC em ratos jovens e o efeito hepatoprotetor da vitamina E-TPGS, observaram diminuição significativa do consumo de ração e conseqüentemente do ganho de peso nos animais com cirrose biliar quando comparados com o grupo controle. Gibelli et al. (2003), relacionam a desnutrição decorrente da cirrose biliar, com a gravidade da doença, sendo este um fator negativo, elevando os níveis de mortalidade.

Desta forma o estado nutricional do paciente com AVBEH pode influenciar de forma direta na resposta do organismo e na inclusão da criança na fila do transplante hepático. Além disso, o estado nutricional do paciente também influenciará na evolução pós-transplante, proporcionando um aumento substancial na taxa de sobrevivência (BEZERRA, 2007).

### **Alterações clínicas**

Durante o experimento foi possível observar mudanças importantes em diversos aspectos clínicos em 90 % dos animais que foram submetidos a cirrose biliar por LRDBC, grupo G2. Observaram-se alterações na coloração da urina e nas esclerótidas, sendo que as mesmas apresentaram-se com coloração amarelo-alaranjado caracterizando obstrução biliar que teve como consequência um quadro de icterícia, pelo extravasamento de bilirrubina na circulação. Além disso, foi possível observar, nesse grupo, alterações na pelagem, com presença de queda de pelo e diminuição da sua espessura e diminuição da mobilidade dos animais.

Não foram encontrados na literatura dados sobre as alterações clínicas em ratos submetidos a esse modelo experimental de cirrose biliar, porém essas alterações se manifestam com frequência em pacientes com AVBEH, visto pela diminuição da absorção de ácidos graxos essenciais (AGE): linoléico (w-6) e alf-linolênico (w-3) (TANNURI et al., 1996). Adicionalmente, os mesmos podem ser oxidados como fontes energéticas se a ingestão e a absorção calórica forem inadequadas. Segundo Aleman et al. (2002) as deficiências de linoléico e alf-linolênico pode causar: descamação da pele; queda de cabelo e restrição do crescimento. Outra característica observada com frequência na prática clínica de pacientes com AVBEH é a presença de icterícia decorrente da hiperbilirrubinemia por obstrução da árvore biliar extrahepática.

## **Exames Bioquímicos**

### **ALT e AST**

As médias das concentrações séricas dos parâmetros bioquímicos de ALT e AST encontradas no grupo controle (G1) foram estatisticamente menores quando comparadas com o grupo experimental (G2) ( $p=0,001$ ). Sendo os valores médios de ALT e AST do G1 de  $46,6\pm 11,82$  e  $38,8\pm 9,61$ , respectivamente e para o G2 valores ALT e AST de  $278,95\pm 56,82$  e  $187,70\pm 74,22$ .

A LRDBC aumentou significativamente os níveis séricos de ALT e AST, assim como o esperado em cirróticos crônicos. (BATTOCHIO, 2004). A AST é uma enzima que cataboliza aminoácidos permitindo que entrem no ciclo de Krebs, está relacionada com a integridade dos hepatócitos, porém não é específica do fígado, podendo ser encontrada no músculo cardíaco, rim, cérebro e eritrócitos. (BRUHA et al., 2012). Já a ALT é uma enzima que catalisa a interconversão do grupamento amino da alalina para o  $\alpha$ -cetogluturato formando piruvato e, portanto desempenha importante função da gliconeogênese e metabolismo de aminoácidos. A atividade do ALT é observada principalmente no fígado, de tal forma que é considerado um marcador hepato-específico. O aumento plasmático concomitante de AST e ALT confirmam a origem hepática da lesão e, apesar da ALT refletir a injúria hepática, a AST tem uma correlação com a presença de fibrose, sendo a associação destes dois marcadores hepáticos fundamental para o diagnóstico de cirrose hepática (AKERBOOM, 1991).

Battochio (2004), estudando a suplementação de vitamina C na cirrose biliar secundária provocada por ligadura de ducto biliar comum, observou que os ratos que foram que desenvolveram a cirrose pela ligadura tiveram aumento significativo das enzimas ALT e AST quando comparadas com o grupo controle. Mostrando, desta forma, que a presença de bile nos hepatócitos de forma crônica pode levar à lesão hepatocelular e conseqüentemente refletir na elevação desses marcadores de lesão hepática.

## **CONCLUSÃO**

Conclui-se que a cirurgia de LRDBC pode simular a AVBEH, que tem como consequência a cirrose biliar secundária. Foi possível observar alterações nutricionais importantes, como a diminuição do consumo alimentar, que provavelmente está relacionada com quadro de anorexia, e a diminuição do ganho de peso, que pode estar relacionado tanto com o déficit de consumo quanto pelo quadro de má-absorção devido à presença de colestase.

A cirurgia causou retenção de bile nos hepatócitos ocasionando dano hepatocelular visto pelas alterações das enzimas hepáticas. Desta forma a cirurgia de LRDBC pode ser utilizada como um modelo fiel no desenvolvimento da cirrose biliar extra-hepática, e novos estudos devem ser realizados utilizando essa técnica cirúrgica com o objetivo de encontrar alternativas para recuperação do estado nutricional desses pacientes através da suplementação de nutrientes específicos durante essa fase da doença.

## REFERÊNCIAS

AKERBOOM, T. et al. Cholestasis and changes of portal pressure caused by chlorpromazine in the perfused rat live. **Hepatology**, v. 13, p. 216-21, 1991

ALEMAN, M. R. et al. **Leptin role in advanced lung câncer. A mediator of the acute phase response or a marker of the status of nutrition cytokine.** v. 19, p. 21-26, 2002.

AN, Y.; BIE, P.; LIU, B. Clinical study on the changes of growth jaundice. **CHUNG HUA I HSUCH TSA CHIH**, v. 81, p. 921-923, 2001.

ARRESE, M.; YANAN, M. A.; SUCHY, F. Hepatobiliary transport: Molecular mechanisms of development and cholestasis. **Pediatr. Res.**, v. 44, p. 141-147, 2001.

ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES SINGLE-TOPIC CONFERENCE. **Hepatology**, 2005.

BALISTRERI, W. F. Intrahepatic cholestasis: summary of an American.

BALISTRERI, W. F.; BOVE, K. E.; RYCKMAN, F. C. Biliary atresia and other disorders of the extrahepatic bile ducts. In: SUCHY, F. J.; SOKOL, R. J.; BALISTRERI, W. F. **Liver disease in children**. 2. ed. Philadelphia: Lippincott, 2001. p.253-274.

BATTOCHIO, A. P. R. et al. Nutrition management in chronic liver disease. **Indian J. Pediatr.**, v. 69, p. 427- 431, 2002.

BLOMSMA, M. C. et al. Insulin - like Growth Factor. I in liver cirrosis. **J. Hepatol.** v. 27, p. 1133-1138, 1997.

BRUHA et al. Alcoholic liver disease. **Jornal Hepatologia**, v. 4, n. 3, mar. 2012.

CAMERON, G. R.; OAKLEY, C. L. Ligation of the common bile duct. **J. Pathol. Bactercon.** v. 35, p. 769-799, 1932.

MEYER, A.; PENTEADO, S. Colestase extra-hepática. **Jukemura J.**, v. 119, p. 1653-1658, 2014

GIBELLI, N. E. M. **Fibrose portal e periportal na obstrução extra-hepática experimental em ratos jovens e adultos**: contribuição para o estudo da atresia das vias biliares, 2003.

TANNURI, U. Atresia das vias biliares - Evolução nas duas últimas décadas. **Jornal de pediatria**, v. 72, p. 2-5, 1996.