

FABIANO MONTIANI FERREIRA

AVALIAÇÃO ESTRUTURAL DO PARÊNQUIMA HEPÁTICO ATRAVÉS  
DA HISTOLOGIA E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA EM CÃES  
INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE PELO TETRACLORETO DE  
CARBONO.

Dissertação apresentada como requisito parcial  
à obtenção do grau de Mestre. Curso de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias,  
Universidade Federal do Paraná. Orientador:  
Prof. Pedro Ribas Werner.

CURITIBA  
1997

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu “super vô”, Dr. Carlos Franco Ferreira da Costa, um grande homem, um grande médico.

*In all kinds of animals almost anything that makes the liver stop functioning produces the same clinical signs wether it is a toxic substance, an infectious agent or a circulatory problem.*

Dr. Murray E. Fowler, 1997

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Metry “Biochemistry Zeus” Bacila, pelo apoio dado a este projeto e pelo exemplo profissional e de vida;

À Dra. Clotilde Lourde Branco Germiniani, pela prontidão no fornecimento do que foi preciso para realizar o experimento e por colocar-se sempre a disposição para resolver qualquer entrave logístico sempre com muito bom humor...;

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Ribas “super mega power master supreme” Werner, antes de tudo por ser verdadeiramente meu amigo, depois por ser uma espécie rara de homem de bom-senso;

Aos meus co-orientadores Prof. José Ricardo “Coverdale” Pachaly e Prof. Luimar Carlos “King of Brazilian Clinicians” Kavinski, que ficaram quase sempre por ali para dar uma grande mão;

Ao Professor Henrique Koehler, por me ajudar muito na análise estatística deste trabalho, por me ensinar a teoria do alfaiate e por gostar de Harley Davidson’s motors (by the way- have a nice trip!);

Ao Prof. Dr. Guilberto Minguetti do Centro de Tomografia Computadorizada S/C Ltda., por ter acreditado no trabalho e pelo auxílio técnico prestado;

À Coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, pelo profissionalismo e boa-vontade dos seus funcionários;

Ao pessoal do Serviço de Medicina de Animais Selvagens e do Hospital Veterinário;

À minha mãe e meu irmão por terem agüentado firme 26 longos anos de chatice e 14 anos de Hard Rock nos ouvidos...

## SUMÁRIO

<b>1- INTRODUÇÃO &amp; OBJETIVOS .....</b>	<b>1</b>
<b>2- REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
2.1 FUNÇÃO, ESTRUTURA E RELAÇÕES ANATÔMICAS DO FÍGADO .....	5
2.1.1 <i>Estrutura do Parênquima Hepático</i> .....	7
2.1.2 <i>Vascularização hepática</i> .....	9
2.2 NECROSE HEPÁTICA.....	11
2.3 O MODELO DE INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA AGUDA INDUZIDA PELO TETRACLORETO DE CARBONO.....	15
2.4 NÍVEIS SÉRICOS DE ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT).....	16
2.5 SINAIS CLÍNICOS DA INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA AGUDA.....	18
2.6 BIÓPSIA HEPÁTICA .....	19
2.6.1 <i>Possíveis complicações ocasionadas pela biópsia hepática</i> .....	21
2.6.2 <i>Anestesia para a realização de biópsia hepática</i> .....	22
2.7 REGENERAÇÃO HEPÁTICA.....	23
2.8 A EVOLUÇÃO DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM DAS ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM PEQUENOS ANIMAIS.....	24
2.9 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA .....	28
2.9.1 <i>Análise do Método</i> .....	30
2.9.2 <i>A Evolução dos Aparelhos de Tomografia</i> .....	34
2.9.3 <i>Aplicações da Tomografia Computadorizada na Clínica Médica de Pequenos Animais</i> .....	38
<b>3 MATERIAL &amp; MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
3.1 PREPARAÇÃO DOS ANIMAIS .....	43
3.2 DESENHO EXPERIMENTAL .....	43
3.2.1 <i>Biópsias hepáticas</i> .....	46
3.2.1 <i>Preparação das lâminas e exame histopatológico</i> .....	47
3.2.2 <i>Mensuração dos Níveis Séricos de Alanina Aminotransferase</i> .....	48
3.2.3 <i>Tomografia computadorizada do fígado</i> .....	49
3.2.4 <i>Análise Estatística</i> .....	50
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>52</b>
4.1 HISTOPATOLOGIA .....	52
4.2 NÍVEIS SÉRICOS DE ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT).....	58
4.3 RADIODENSIDADE DO PARÊNQUIMA HEPÁTICO.....	61
4.4 QUADRO CLÍNICO.....	66
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>73</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>75</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Sugestão de ajuste de janela e centro para o exame tomográfico de alguns órgãos e tecidos em pequenos animais.....	33
<b>Tabela 2-</b> Protocolo experimental segundo a escala de tempo em que foram realizadas as biópsias, colheitas de sangue e exames de tomografia computadorizada no grupo dos animais que receberam o CCl <sub>4</sub> .....	44
<b>Tabela 3-</b> Protocolo experimental segundo a escala de tempo em que foram realizadas as biópsias, colheita de sangue e exames de tomografia computadorizada no grupo controle.....	45
<b>Tabela 4-</b> Características histológicas das amostras de tecido hepático e o respectivo grau de necrose .....	47
<b>Tabela 5-</b> Tratamentos utilizados na análise estatística do experimento .....	50
<b>Tabela 6-</b> Alterações histológicas observadas, considerando apenas os graus de necrose centro-lobular encontradas nas amostras de tecido hepático nos diferentes períodos de tempo (0, 24, 48, 96 e 192 horas), em 11 cães intoxicados por CCl <sub>4</sub> .....	57
<b>Tabela 7-</b> Análise de variância do logaritmo das médias dos níveis séricos de ALT antes e após a administração do CCl <sub>4</sub> .....	58
<b>Tabela 8-</b> Análise de variância das médias dos níveis de radiodensidade do tecido hepático nos períodos antes e após a administração do CCl <sub>4</sub> .....	60
<b>Tabela 9-</b> Análise de variância das médias dos níveis de radiodensidade do tecido hepático nos diferentes períodos fixos antes e após a administração do CCl <sub>4</sub> .....	62

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Representação esquemática da disposição dos lobos hepáticos como visto na superfície côncava visceral.....07
- Figura 2**- Representação esquemática da estrutura do parênquima hepático, demonstrando o lóbulo hepático, o lóbulo portal, o ácino e as diferentes zonas de hepatócitos (I, II e III)..09
- Figura 3**- Representação esquemática dos vários padrões de necrose encontrados no parênquima hepático. A) Necrose peri-portal (zona 1); B) Necrose da porção intermediária (zona 2); C) Necrose centro-lobular ou peri-acinar; D) Necrose para-central..... 14
- Figura 4**- Representação esquemática do posicionamento do paciente na mesa e da projeção multiangular de raios X que formará a imagem na tela do computador.....31
- Figura 5** - Representação esquemática de um voxel formado em tons de cinza na tela de um computador.....32
- Figura 6**- A) Representação esquemática do posicionamento do conjunto ampola/detector de raios X, nos tomógrafos de primeira geração. B) Representação do conjunto de receptores utilizado nos tomógrafos de segunda geração. Note a presença dos movimentos de rotação e translação nos dois conjuntos .....35
- Figura 7**- A) Representação da disposição da ampola e dos detectores de raios X nos tomógrafos de terceira geração. B) Representação da capacidade ampla de rotação da ampola de raios X dentro de um conjunto circular de detectores, típico dos tomógrafos de quarta geração.....36
- Figura 8**- Representação esquemática das estruturas anatômicas do tórax de um cão. O asterisco (\*) indica o ponto de inserção da agulha de biópsia.....46

<b>Figura 9-</b> Fotografia demonstrando o aparelho de tomografia computadorizada utilizado no experimento (ELSCINT CT- Twin II) e posicionamento do animal anestesiado, durante o exame .....	49
<b>Figura 10-</b> Fotomicrografia de amostra de tecido hepático, corada com hematoxilina e eosina, colhida antes da administração do CCl <sub>4</sub> , demonstrando hepatócitos próximos a uma veia central, no canto superior esquerdo. Objetiva de 40 x.....	51
<b>Figura 11-</b> Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 24 horas após a administração do CCl <sub>4</sub> , corada com hematoxilina e eosina, demonstrando hepatócitos próximos à veia central. Nota-se área de transição de tecido hepático de aspecto normal (à direita) para uma área em que grupos de hepatócitos mortos podem ser observados. Objetiva de 40x.....	52
<b>Figura 12-</b> Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 48 horas após a administração do CCl <sub>4</sub> demonstrando áreas de necrose centro-lobular severa e vários espaços-porta cercados por tecido hepático aparentemente normal. Objetiva de 10 x.....	53
<b>Figura 13-</b> Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 48 horas após a administração do CCl <sub>4</sub> , demonstrando hepatócitos próximos à veia central. Observa-se área de necrose centro-lobular severa, muitos restos celulares, estroma remanescente e algumas hemácias (à esquerda). Objetiva de 40 x.....	53
<b>Figura 14-</b> Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 96 horas após a administração do CCl <sub>4</sub> , demonstrando três regiões centro-lobulares. Em algumas observam-se pequenas áreas semelhantes a uma grade de estroma no centro do lóbulo. Objetiva de 10 x.....	54
<b>Figura 15-</b> Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 96 horas após a administração do CCl <sub>4</sub> , demonstrando área de transição entre o tecido hepático normal e a área de necrose centro-lobular. Observa-se menor quantidade de restos celulares e hemácias em relação a lesão observada 48 horas após a administração do CCl <sub>4</sub> . Objetiva de 40 x.....	55

**Figura 16-** Fotomicrografia de uma amostra de tecido hepático obtida 192 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>. Observa-se completa regeneração das áreas necrosadas. Nota-se também padrão lobular evidenciado pela diferença de coloração das células novas, localizadas na região centro-lobular e que são mais claras em relação aos hepatócitos mais velhos, localizados nas regiões próximas aos espaços-porta. Objetiva de 10 x. .... 56

**Figura 17-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 192 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>, demonstrando hepatócitos próximos a uma veia central, (comparar com a figura 10). Objetiva de 40 x. .... 56

**Figura 18-** Médias dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) pré-intoxicação (0h) e pós-intoxicação (24, 48, 96 e 192h). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade .... 59

**Figura 19-** Demonstração das médias de radiodensidade do tecido hepático em Unidades Hounsfield, obtidas por tomografia computadorizada antes e após a intoxicação por CCl<sub>4</sub> ..... 61

**Figura 20-** Demonstração das médias de radiodensidade do tecido hepático em Unidades Hounsfield, obtidas por tomografia computadorizada nos períodos pré-intoxicação (0 h) e pós- intoxicação (24, 48, 96 e 192 h). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ..... 62

**Figura 21-** Tomografia computadorizada, secção na décima primeira vértebra, demonstrando contornos regulares, além de dimensão e textura hepática normais. A marcação AV demonstra a radiodensidade da área demarcada pelo cursor em forma de círculo (71,4 UH) ..... 63

**Figura 22** - Tomografia computadorizada, secção na décima primeira vértebra, obtida 48 horas após a intoxicação. Observa-se que os contornos, dimensões e textura hepática não variam após a intoxicação. A marcação AV demonstra a radiodensidade da área demarcada, pelo cursor em forma de círculo (50,8 UH). A área cujo valor da radiodensidade foi demonstrado na foto corresponde, aproximadamente, a mesma área cujo valor foi demonstrado na Figura 21.....63

**Figura 23**- Representação das médias de radiodensidade do tecido hepático em Unidades Hounsfield, obtidas por tomografia computadorizada nos períodos pré-intoxicação (0 h) e pós- intoxicação (24, 48, 96 e 192 h) comparada com as médias das concentrações séricas de ALT em Unidades por litro (U/L) obtidas no experimento.....64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT- alanina aminotransferase  
AST- aspartato aminotransferase  
TC- tomografia computadorizada  
CCl<sub>4</sub>. Tetracloreto de carbono  
FA- fosfatase alcalina  
GGT- gama-glutamilttransferase  
GLDH- glutamato desidrogenase  
LDH<sub>5</sub>- lactato desidrogenase- isoenzima 5  
SD- sorbitol desidrogenose  
U/l- Unidades por litro  
UH- Unidades Hounsfield

## RESUMO

### AVALIAÇÃO ESTRUTURAL DO PARÊNQUIMA HEPÁTICO ATRAVÉS DA HISTOLOGIA E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA EM CÃES INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE PELO TETRACLORETO DE CARBONO.

Atualmente há vários métodos de exame estrutural e/ou funcional do fígado. Não existem trabalhos publicados a respeito das alterações observadas na tomografia computadorizada do fígado de cães apresentando insuficiência hepática aguda induzida experimentalmente. O presente trabalho tem por objetivos determinar a média dos valores de radiodensidade obtidos por tomografia computadorizada do tecido hepático normal de cães além de determinar as correlações entre alterações observadas no exames histológico do tecido hepático, análise dos níveis séricos de alanina aminotransferase e tomografia computadorizada do fígado após a administração do tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>). Em todos os procedimentos os animais foram anestesiados com propofol na dose de 9,0 mg/kg por via intravenosa. O tecido hepático foi obtido através da realização de biópsia percutâneas transtorácicas. Antes da administração do CCl<sub>4</sub> (T-0), foram realizados exames histológicos e tomográficos do tecido hepático, além da determinação dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT). Nesta fase do experimento, foi determinada a radiodensidade normal do tecido hepático, que foi de  $81,31 \pm 6,98$  Unidades Hounsfield (UH). Subsequentemente, uma única dose de 1,5 ml/kg de tetracloreto de carbono foi administrada via sonda oro-gástrica e todos os exames foram realizados novamente 24, 48, 96 e 192 horas mais tarde. A necrose centrolobular com sutil transformação gordurosa resultante correlacionou-se com maiores níveis de ALT no soro (5330,304 U/l) e menores valores numéricos de radiodensidade ( $68,275 \pm 12,02$  UH). Os primeiros sinais de regeneração hepática foram observados após 96 horas da administração do CCl<sub>4</sub> conjuntamente à diminuição dos níveis séricos de ALT e aumento da radiodensidade do tecido hepático. Houve correlação positiva entre o grau de necrose do tecido hepático e os níveis de ALT no soro e correlação negativa entre os níveis de ALT no soro e os valores de radiodensidade. Adicionalmente, observou-se que o agente anestésico propofol, além de ser seguro para hepatopatas, provavelmente não é metabolizado exclusivamente pelo fígado.

**Unitermos:** tetracloreto de carbono, insuficiência hepática, biópsia hepática, alanina aminotransferase, radiodensidade, tomografia computadorizada.

## ABSTRACT

### HEPATIC STRUCTURE EVALUATION BY HISTOLOGY AND COMPUTED TOMOGRAPHY FOLLOWING EXPERIMENTAL CARBON TETRACHLORIDE INTOXICATION IN DOGS

Several diagnostic methods are available in order to evaluate hepatic structure and function. However there are no published data on liver changes using an experimental model of acute hepatic failure seen in computed tomography examination. The main objective of this study was to determine the correlation between seric alanine aminotransferase (ALT) levels, computed tomography (CT) radiodensity and histological properties of the liver following carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) administration in 14 dogs. During the experiment, samples of hepatic tissue were obtained by blind percutaneous transthoracic needle core biopsy. Before CCl<sub>4</sub> administration, seric ALT assays were performed, as well as histological and CT examinations of the liver. All procedures were made with the animal under anesthesia achieved using propofol intravenously. Normal canine liver CT radiodensity was established to be  $81,31 \pm 6,98$  UH. Subsequently, a single dose of 1.5 ml/kg of CCl<sub>4</sub> was administered via gastric tube and all tests performed again at 24, 48, 96 and 192 hours after. The resultant centrilobular necrosis and fatty change of the liver correlated with increased ALT seric levels (5330,304 IU/l) and decreased CT scan radiodensity values ( $68, 275 \pm 12,02$  UH). Initial histological signs of hepatic regeneration were noticed at 96 hours after CCl<sub>4</sub> administration, along with a general decrease in ALT levels and a increase in CT radiodensity until 192 hours when regeneration was almost complete. There was a positive correlation between hepatic necrosis and ALT levels and negative correlation between CT radiodensity numbers and ALT levels in the serum. Besides, it was demonstrated that the anesthetic agent propofol, in addition of being safe for a patient suffering liver damage, probably is not metabolized in the liver only.

**Key words-** carbon tetrachloride, hepatic insufficiency, liver biopsy, alanine aminotransferase, radiodensity, computed tomography, propofol.

## 1- INTRODUÇÃO

As funções do fígado parecem ser infinitas no que tange à variedade e à complexidade das mesmas na manutenção da homeostase no organismo animal. De modo geral, as funções hepáticas podem ser classificadas como anabólicas, catabólicas, detoxificadoras, secretórias e excretórias, embora haja sempre alguma superposição entre as categorias citadas (KELLY, 1993). O fígado tem como uma de suas principais características a capacidade de biotransformação e metabolização de substâncias absorvidas por via entérica ou sintetizadas em outros órgãos. Tal capacidade desempenha um papel fundamental na manutenção da vida. Entretanto, o mesmo mecanismo protetor, também chamado detoxificação, expõe o órgão constantemente ao risco de desenvolvimento de lesões que podem comprometer severamente suas funções e a vida do paciente. A potência dos mecanismos de detoxificação pode ser profundamente alterada pela exposição prévia, natural ou iatrogênica, a uma gama de substâncias.

O estudo das alterações histopatológicas do fígado exposto a substâncias tóxicas sempre despertou grande interesse entre cientistas de várias áreas. Devido à grande frequência e à importância clínica das intoxicações hepáticas, inúmeras pesquisas sobre patologia toxicológica do fígado já foram, e continuam sendo desenvolvidas. Tais pesquisas trouxeram a elaboração de diversos modelos experimentais que mimetizam extremamente bem situações clínicas e laboratoriais encontradas em muitas doenças. Um dos modelos animais de lesão hepática, muito explorado nas quatro últimas décadas, é o da intoxicação pelo tetracloreto de carbono, já considerada pela comunidade científica médica como modelo animal "clássico" de insuficiência hepática aguda (VAN VLEET *et al.*, 1968; ANWER *et al.*, 1976; AGUILERA-TEJERO *et al.*, 1988; CENTER, 1996c).

Existem muitas provas bioquímicas de extremo valor para o diagnóstico de doença hepática, tais como a determinação dos níveis séricos de alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, bilirrubina e ácidos biliares. Entretanto, do

ponto de vista clínico-laboratorial, considerando os sinais clínicos e os diferentes testes que podem indicar disfunção hepática, dificilmente obtém-se outro tipo de diagnóstico que não "insuficiência hepática", termo bastante abrangente, uma vez que, independentemente da natureza do agente etiológico da doença hepática, os sinais clínicos e os testes complementares de diagnóstico "comportam-se" de maneira muito semelhante na maioria das espécies (OSBORNE *et al*, 1974; FOWLER, 1997).

Para identificação específica das alterações do fígado bem como da potencial reversibilidade das mesmas torna-se necessário o exame histopatológico. Por este motivo, a análise de amostras provenientes de biópsias hepáticas consagrou-se como importante método de diagnóstico das doenças hepáticas na clínica médica de pequenos animais (WILBER *et al.*; 1967; OSBORNE *et al*, 1974; FELDMAN *et al.*, 1987).

Outro ponto em que a ciência médica vem avançando é na tentativa de se produzir imagens do fígado, por meio não invasivo, com o intuito de identificar a existência de alterações sugestivas de disfunção e, quando possível, diagnosticar a doença. Por muitos anos, a utilização de radiografias simples, principalmente, e das respectivas variações da técnica empregando contrastes positivos ou negativos, como a colecistografia, venografia portal, arteriografia hepática, peritoneografia e gastrografia, foram as principais técnicas de diagnóstico por imagem empregadas no exame do fígado na Medicina e na Medicina Veterinária. A partir da década de 80, com o advento da ultra-sonografia na Medicina Veterinária, observou-se correspondente evolução da capacidade de avaliar a estrutura hepática possibilitando maior capacidade de detecção e caracterização de diferentes hepatopatias em cães e em gatos (PENNINCK *et al.*, 1997; LAMB, 1996). Pode-se dizer que no Brasil a ultra-sonografia difundiu-se nos grandes centros de Medicina Veterinária somente a partir do início dos anos 90. Entretanto, o método ainda apresenta algumas restrições no diagnóstico das alterações teciduais difusas (BILLER *et al.*, 1992). A introdução de técnicas ainda mais modernas de diagnóstico por imagem, como a tomografia computadorizada e a ressonância magnética abriram um novo capítulo na história da Medicina. Na ultra-sonografia, os tecidos só podiam ser diferenciados um dos outros se possuíssem densidades

muito diferentes. No método de tomografia computadorizada, obtêm-se valores absolutos do coeficiente de atenuação dos raios-X de cada tecido possibilitando excelente diferenciação, mesmo quando possuírem densidades muito próximas. Do mesmo modo, há a possibilidade de se detectar variações sutis de densidade do parênquima hepático correspondente a uma alteração patológica, como nas neoplasias por exemplo, ou mesmo nas alterações difusas como na degeneração gordurosa, cirrose ou necrose (HOUNSFIELD, 1973; ITAI *et al.*, 1988; TORRES *et al.*, 1986; RADIN, 1992). Segundo LAMB (1996), a tomografia computadorizada pode fornecer informações muito detalhadas a respeito da estrutura hepática e existem muitas indicações clínicas para a utilização do exame como método auxiliar no exame hepático.

Não existem estudos publicados à respeito das alterações difusas do parênquima hepático observadas por tomografia computadorizada em cães, somente algumas citações de achados acidentais no exame de doenças hepáticas como neoplasias ou transformação gordurosa (WOLFF *et al.*, 1988; LAMB, 1996; FERREIRA *et al.*, 1997b). Apesar da disponibilidade do exame na Medicina, as correlações entre alterações difusas como necrose, cirrose e transformação gordurosa e as respectivas imagens de tomografia computadorizada ainda estão sendo estabelecidas em seres humanos (ITAI *et al.*, 1988; TORRES *et al.*, 1986; RADIN *et al.*, 1992). Do mesmo modo, os modelos animais clássicos de insuficiência hepática ainda não foram explorados pelo exame de tomografia computadorizada do abdômen (LAMB, 1996). A exploração de tais modelos poderia estabelecer correlações bastante acuradas entre as imagens tomográficas de alterações parenquimatosas do tecido hepático com o respectivo diagnóstico histopatológico, contribuindo assim para a padronização de um método complementar de diagnóstico rápido e não invasivo.

Na tentativa de contribuir para o melhor conhecimento das imagens tomográficas observadas em cães com insuficiência hepática aguda, bem como das suas relações com as alterações histológicas e de bioquímica sérica, o presente trabalho tem por objetivo:

- a) determinar os valores de radiodensidade (capacidade de atenuação de raios-x) do tecido hepático normal de cães;
- b) determinar, nos mesmos cães, as alterações observadas no exames histológico do tecido hepático, na análise dos níveis séricos de alanina aminotransferase e na tomografia computadorizada do fígado após a administração do tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ );

## **2- Revisão da Literatura**

### ***2.1 Função, estrutura e relações anatômicas do fígado***

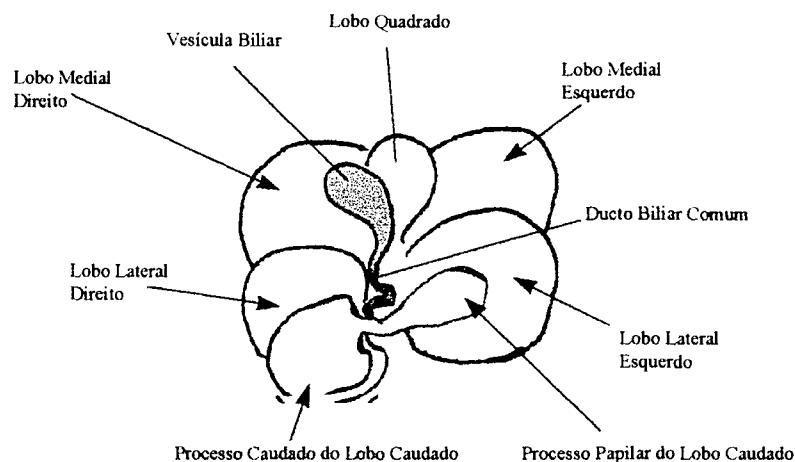
Para o entendimento da insuficiência hepática aguda há a necessidade de relembrar alguns conceitos básicos da função e da estrutura hepática.

Estrategicamente posicionado entre o aparelho digestório e a circulação sistêmica, o fígado recebe sangue venoso das vísceras abdominais e sangue arterial da aorta. Possui papel fundamental no metabolismo intermediário, sendo responsável por muitos mecanismos homeostáticos como regulação de fluidos, eletrólitos, temperatura e dinâmica circulatória. Apresenta também atividades sintéticas, detoxificadoras, biotransformadoras, armazenadoras e participa do sistema imunitário orgânico (CENTER & STROMBECK, 1996).

Basicamente, pode-se assumir que o fígado conduz todos os aspectos do metabolismo do organismo animal, sendo o principal sítio metabólico do corpo. Para melhor entender as múltiplas funções do fígado, pode-se compará-lo, numa visão menos científica, a uma orquestra. Atualmente, estima-se que o fígado possui 1500 funções na manutenção da homeostase, como uma grande orquestra de 1500 componentes. Se uma ou algumas destas funções estiverem comprometidas, a orquestra pode tornar-se sutilmente dissonante, um bom ouvido, com um pouco de concentração, poderia identificar a alteração. Se uma ou muitas partes importantes da orquestra estiverem comprometidas, toda performance tornar-se-ia prejudicada e o comprometimento seria óbvio.

Com isto em mente, é fácil de entender que a doença hepática, sem levar em consideração a causa, afeta virtualmente todo o sistema homeostático orgânico, em maior ou menor grau, incluindo a manutenção do metabolismo de nutrientes, equilíbrio hormonal, circulatório e a detoxificação e distribuição de produtos a serem eliminados, tanto endógenos quanto exógenos (SHERLOCK, 1991a; CENTER, 1996b; JACKSON, 1996).

O fígado é o maior órgão parenquimatoso da cavidade abdominal, correspondendo a aproximadamente 3,4% do peso de um cão adulto. Sua superfície convexa está em aposição ao diafragma e sua superfície côncava, ou visceral, em contato com o estômago, duodeno, pâncreas e rim direito. O fígado do cão, em condições normais, posiciona-se cranialmente à décima terceira costela e é dividido em 4 grandes lobos, característica que facilita a adaptação às mudanças de posição corpórea, possibilitando que um lobo literalmente deslize sobre o outro à medida em que a coluna vertebral se curva. Os lobos, denominados direito, esquerdo, quadrado e caudado, são distintos na periferia do órgão mas unem-se no hilo (Figura 1). O lobo esquerdo é o maior, compreendendo de 30 a 50% de toda massa hepática. Este lobo é também o mais móvel e possui, geralmente, margens irregulares. Os lobos direito e esquerdo podem ser subdivididos em regiões laterais e mediais. O lobo quadrado é situado entre os lobos mediais direito e esquerdo. A vesícula biliar é posicionada na fossa entre o lobo quadrado e o direito medial. O lobo caudado, por sua vez, é dividido em processo papilar e processo caudado, situando-se quase que completamente na superfície visceral do fígado. O processo papilar situa-se na impressão gástrica do lobo esquerdo e é a porção mais caudal do fígado. O processo caudado é palpável quando o fígado está aumentado de tamanho. A impressão duodenal localiza-se no processo caudado e a fossa renal situa-se no seu aspecto mais caudal. O peritônio recobre quase que completamente o fígado e contribui com ligamentos que ancoram o órgão às vísceras e à parede corpórea (STROMBECK *et al.*, 1991a; EVANS, 1993; CENTER *et al.*, 1996).



**Figura 1** - Representação esquemática da disposição dos lobos hepáticos como visto na superfície côncava visceral.

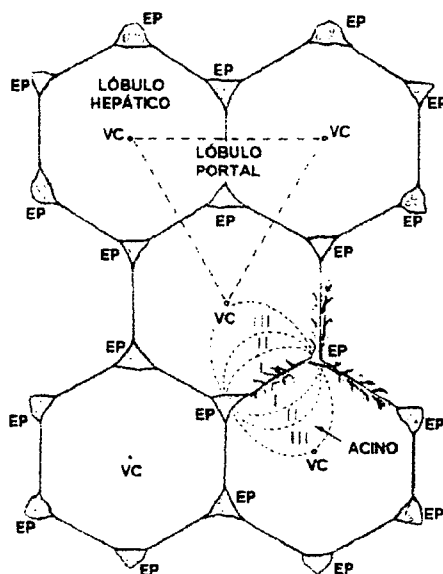
### 2.1.1 Estrutura do Parênquima Hepático

O parênquima hepático pode ser subdividido histologicamente em lóbulos ou funcionalmente em ácinos. Em alguns animais, como o porco, o camelo, o urso polar e o quati, observa-se que grupos de hepatócitos são cercados por septos de tecido conjuntivo denso que delimitam áreas poligonais, de aproximadamente 1 a 2 mm de diâmetro, denominadas lóbulos (Figura 2). Entretanto, na maioria dos animais não há demarcação clara devido a pouca quantidade de tecido conjuntivo nos septos interlobulares, embora o padrão de distribuição dos hepatócitos é exatamente o mesmo. Todavia, nos cães e nos gatos alguns processos patológicos podem salientar o padrão lobular (CENTER, 1996b).

Em todos os cantos do polígono encontra-se uma tríade portal. Denomina-se tríade portal o conjunto composto de um ramo da veia porta, um ramo da artéria hepática e um ducto biliar, todos cercados por tecido conjuntivo. A veia central localiza-se no centro do lóbulo (CENTER, 1996b).

O ácino compreende o grupo de hepatócitos orientados ao redor de um eixo vascular composto pelos vasos portais e arteríolas aferentes. O sangue flui no sentido do eixo vascular à vênula hepática terminal, ou veia central quando considera-se um lóbulo. O conjunto de ácinos originários de um mesmo

espaço porta pode também ser denominado lóbulo portal. A estrutura acinar pode ainda ser subdividido em diferentes zonas metabólicas baseadas na riqueza nutricional/metabólica da irrigação sangüínea e nas funções dos hepatócitos (KELLY, 1993). A população de hepatócitos que cerca o eixo acinar, mais próxima ao espaço porta, é denominada Zona 1. Esta área é constantemente exposta a sangue com maiores concentrações de nutrientes e de oxigênio. Entretanto, também é a primeira a ser exposta a maiores concentrações de toxinas endógenas e exógenas. Os hepatócitos desta zona também possuem funções metabólicas diferentes daqueles mais próximos a veia central (JACKSON, 1996). A faixa intermediária de hepatócitos localizada a meio caminho do espaço-porta e da veia central é denominada Zona 2. A população que cerca a veia central é denominada Zona 3. Em contraste com a zona 1, os hepatócitos da zona 3 são irrigados por sangue com baixa concentração de nutrientes e oxigênio, já utilizados pelos hepatócitos da zona 1 e 2. Nota-se, portanto, que existe grande heterogeneidade entre hepatócitos pertencentes a um mesmo lóbulo ou ácino (KELLY, 1993; JACKSON, 1996).



**Figura 2-** Representação esquemática da estrutura do parênquima hepático, demonstrando o lóbulo hepático, o lóbulo portal, o ácino e as diferentes zonas de hepatócitos (I, II e III).

### 2.1.2 Vascularização hepática

A irrigação sangüínea do fígado é única no que tange à sua duplicidade arteriovenosa. Entre 20 a 30% do fluxo total origina-se da artéria hepática sendo esta responsável por cerca de 80% do suprimento de oxigênio. A veia porta contribui com a maior parte da irrigação hepática (70 a 80% do total). Embora existam vários ramos arteriais e venosos percorrendo todo parênquima hepático, aproximadamente 60% de todo sangue hepático não está dentro deles, mas sim dentro de sinusóides. Os sinusóides são espaços vasculares com paredes revestidas por endotélio fenestrado, que dão aos hepatócitos acesso a nutrientes e macromoléculas. Os sinusóides funcionam como uma ponte ligando o fluxo sangüíneo que entra pelo espaço porta com a saída de sangue pela veia central. Adicionalmente, os sinusóides contém células e estruturas especializadas, como as células de Kupffer e de Ito. As células de Kupffer são macrófagos hepáticos cuja função principal é a remoção de moléculas antigênicas e restos celulares da circulação hepática e, conseqüentemente, da sistêmica. A importância desta função é tão grande que a célula de Kupffer é o tipo de macrófago mais numeroso encontrado no organismo dos mamíferos. As células de Ito, localizadas no espaço de Disse, são adipócitos especializados cujo principal papel é armazenar e metabolizar retinóides. Como todo tecido adiposo, as células de Ito são derivadas dos mesmos precursores dos fibroblastos, sendo capazes de contribuir para processos patológicos de natureza fibrosa que ocorram no parênquima hepático (CARLISLE *et al.*, 1995; JACKSON, 1996, MEYER, 1996).

O entendimento do mecanismo, composição e direção do fluxo sangüíneo hepático é talvez a chave para o entendimento da fisiologia e da patofisiologia do fígado. Tanto a direção do fluxo sangüíneo, como as concentrações de nutrientes, oxigênio e moléculas residuais do metabolismo variam grandemente, dependendo da região hepática estudada. Como se viu, todo sangue que tem acesso ao lóbulo hepático via espaço porta é conduzido pelos sinusóides ao longo de uma linha de hepatócitos até chegar a veia central do lóbulo (CARLISLE *et al.*, 1995; CENTER *et al.*, 1996).

A irrigação linfática é formada pelos espaços peri-sinusoidais, ou espaço de Disse - local em que se dá a formação de linfa no fígado. A linfa flui em direção ao espaço-porta onde são formados capilares linfáticos (CENTER *et al.*, 1996).

A bile, um produto dos hepatócitos, é uma solução alcalina verde amarelada composta por eletrólitos, sais biliares, colesterol, fosfolipídeos e pigmentos como a bilirrubina. Os metabólitos de alguns hormônios e algumas drogas são excretadas na bile (PASS, 1993).

Os canalículos biliares, os menores componentes da árvore biliar, são formados de porções contíguas da membrana citoplasmática dos hepatócitos especialmente adaptadas. Os canalículos permanecem separados dos hepatócitos e do espaço de Disse devido a presença de desmossomas e fortes complexos juncionais (CENTER *et al.*, 1996).

A formação da bile se dá inicialmente pela secreção ativa de compostos orgânicos dos hepatócitos, principalmente sais biliares, através da membrana do canalículo biliar. Numa segunda etapa, a presença destes compostos no lume dos canalículos gera um gradiente osmótico que literalmente faz com que a água atravesse a membrana dos canalículos em direção ao lume, formando a bile (PASS, 1993; CENTER *et al.*, 1996). A formação de bile ocorre predominantemente na zona 3. Entretanto, o fluxo da excreção biliar tem sentido inverso ao da irrigação sangüínea, percorrendo o lóbulo no sentido da veia central para o espaço porta, ou seja da zona 3 em para a zona 1 (CENTER *et al.*, 1996).

Os canalículos biliares unem-se para formar os ductos interlobulares que se localizam no interstício entre os lóbulos. Os ductos interlobulares também se unem formando os chamados ductos biliares. A porção extra-hepática da árvore biliar inicia-se com a formação do ducto hepático pela confluência dos ductos biliares. Nos cães existem de dois a cinco ductos biliares (EVANS, 1993; GRANDAGE, 1993). Após o encontro dos ductos biliares com o ducto cístico oriundo da vesícula biliar, há a formação do ducto biliar comum ou ducto colédoco que desemboca no duodeno, mais precisamente na papila duodenal maior (EVANS, 1993; GRANDAGE, 1993). A bile, depois de excretada no

duodeno, tem importante papel na digestão, alcalinizando o suco entérico e dissolvendo produtos da digestão de lipídeos (CENTER *et al.*, 1996).

## **2.2 Necrose Hepática**

Os hepatócitos, células que compreendem 60% do tecido hepático, podem ser mortos por substâncias tóxicas, ação de microorganismos, células inflamatórias, deficiências nutricionais ou disfunções metabólicas severas como a hipóxia. Qualquer que seja a origem da agressão, a formação e propagação de radicais livres constituem um fator muito importante na mediação de muitos tipos de lesões hepáticas necrosantes. Os radicais livres são átomos, íons ou moléculas reativas que possuem número ímpar de elétrons em sua órbita e que são particularmente nocivos para as membranas lipoprotéicas dos hepatócitos. Após a degradação inicial destas membranas, os radicais livres tendem a iniciar uma reação em cadeia auto-propagável capaz de destruir grandes áreas teciduais. Portanto, os hepatócitos são altamente vulneráveis às lesões provocadas por radicais livres a não ser que sejam protegidos por antioxidantes como a glutatona e a vitamina E. Certamente, os radicais livres exercem papel fundamental na toxicidade do tetracloreto de carbono, sendo formados como subprodutos do seu metabolismo pelos hepatócitos, principalmente na área centro-lobular ou zona 3 (Figura 3) (KELLY, 1993; CENTER, 1996a).

Os outros estágios ou formas de degeneração hepatocelular, que eventualmente levam a estágios irreversíveis e necrose, são similares aos que ocorrem em todos os outros tecidos. Tais mecanismos de necrose envolvem disfunções iônicas, destruição de membranas celulares ou de organelas intracelulares e interferência no metabolismo energético (KELLY, 1993).

Os hepatócitos da zona centro-lobular são particularmente vulneráveis às agressões porque localizam-se mais longe da fonte de sangue arterial e, portanto, os últimos que recebem oxigênio e nutrientes essenciais. Não obstante, os hepatócitos da zona centro-lobular contém concentrações maiores de oxidases de funções mistas, capazes de transformar substâncias exógenas

em metabólitos reativos que podem ser suficientemente tóxicos para induzir a morte celular (KELLY, 1993). Mais precisamente, sabe-se que os hepatócitos da área centro-lobular são mais susceptíveis a danos celulares, especialmente, porque possuem maior atividade das monoxigenases do citocromo p-450 fazendo com que muitos xenobióticos, ou seja, substâncias estranhas ao metabolismo hepático, sejam transformados em substâncias tóxicas capazes de matar as mesmas células que as produziram (MEYER, 1996). Entre as hepatotoxinas conhecidas por causar necrose centro-lobular e transformação gordurosa, incluem-se o tetracloreto de carbono, compostos arsenicais inorgânicos, clorofôrmio, dinitrotolueno, cloropreno, dicloropropano, iodofôrmio, ácido tânico, naftaleno e alcalóides pirrolizidínicos (BUNCH, 1993; CENTER, 1996c).

Entretanto, o mecanismo da necrose centro-lobular muitas vezes não é facilmente explicável ou é totalmente conhecido, como é o caso da necrose da hepatite infecciosa canina, por exemplo, causada por um adenovírus. Na fase aguda da necrose centro-lobular, as células necróticas deixam espaços que são preenchidos por sangue. Os hepatócitos peri-lobulares sobreviventes geralmente apresentam-se com diferentes graus de transformação gordurosa (KELLY, 1993).

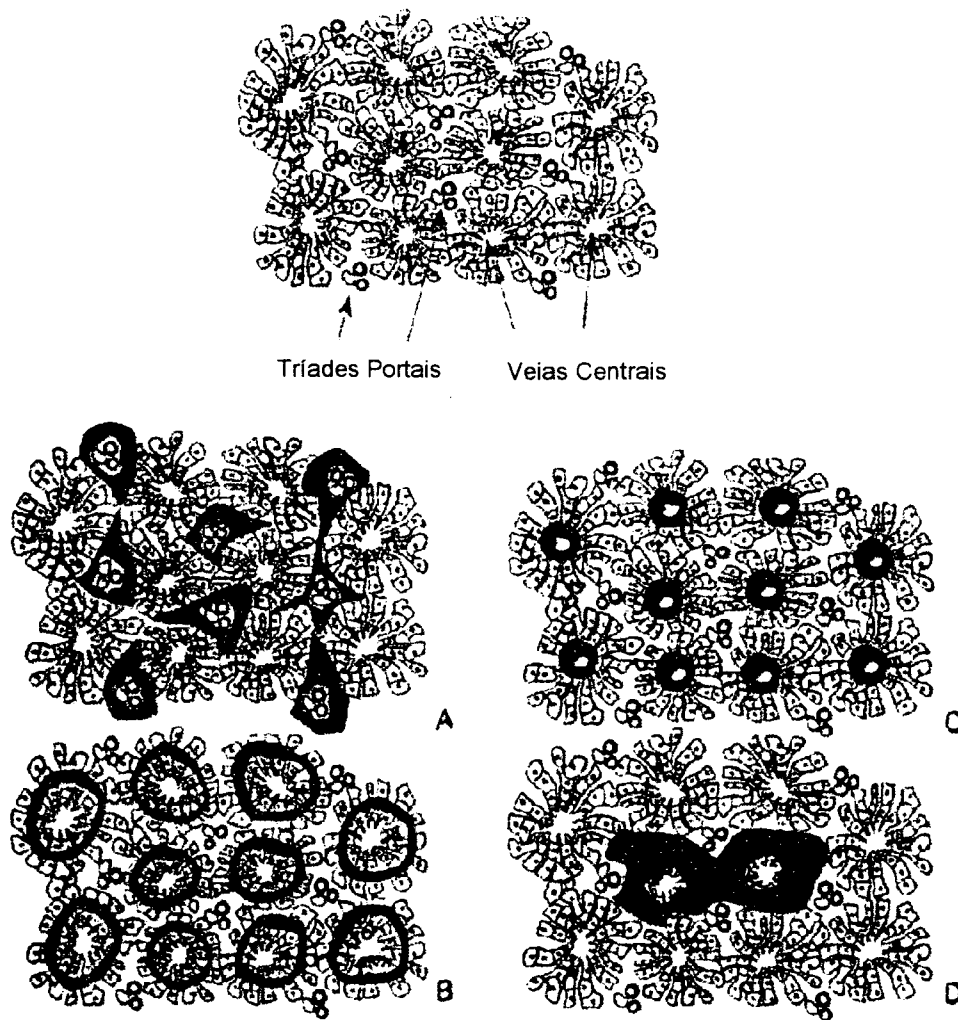
A transformação gordurosa e a necrose centro-lobular também podem ser observadas freqüentemente em fígados de animais que tiveram morte lenta. Acredita-se que, durante o período agônico, os hepatócitos daquela zona sofrem mais os efeitos da má perfusão tecidual e as lesões celulares ocorrem devido a hipóxia. Este mecanismo ocorre mais pronunciadamente em animais anêmicos. Outras causas a que podem resultar em necrose centro-lobular incluem a hipotensão sistêmica, choque e congestão hepática devido a insuficiência cardíaca (STROMBECK *et al.*, 1991d).

Após a necrose centro-lobular severa, a regeneração hepática completa ocorre dentro de poucas semanas (CENTER, 1996b).

A necrose peri-portal pode ser observada quando os hepatócitos desta região são expostos a alguns tipos de toxinas como aflatoxina, endotoxina liberada em casos de pênfigo vulgar, esporidesmina, em casos de pancreatite crônica e de doença intestinal inflamatória crônica (Figura 3). A necrose peri-

portal é uma lesão incomum, entretanto é menos rara que a necrose da região intermediária (zona 2), observada somente em alguns casos de intoxicação por paraquat, berílio e furosemida (CENTER, 1996b).

Em algumas situações pode-se observar a chamada necrose paracentral ou maciça, que envolve todo o ácino (Figura 3). Acredita-se que a lesão é um reflexo de uma condição isquêmica causada por má perfusão da unidade acinar ou tromboembolismo da veia central ou artéria hepática (STROMBECK *et al.*, 1991e; CENTER, 1996c).



**Figura 3-** Representação esquemática dos vários padrões de necrose encontrados no parênquima hepático. A) Necrose peri-portais (zona 1); B) Necrose da porção intermediária (zona 2); C) Necrose centro-lobular ou peri-acinar; D) Necrose paracentral. Segundo CENTER (1996c).

### **2.3 O Modelo de Insuficiência Hepática Aguda Induzida pelo Tetracloreto de Carbono**

O tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) é um composto clorado, que se apresenta na forma de um líquido incolor, muito volátil, neutro e mais denso que a água. Na medicina veterinária o composto, apesar de ser hepatotóxico, já foi utilizado como vermífugo em grandes animais, particularmente contra a fasciolose hepática. Na medicina de pequenos animais, também já foi empregado como vermífugo e, particularmente, contra a sarna demodécica e otodécica (MOLLEREAU *et al.*, 1952)

A intoxicação pelo tetracloreto de carbono tornou-se um modelo experimental clássico em vários animais e mundialmente aceito na medicina comparativa para o estudo de hepatopatias agudas e crônicas (ANWER *et al.*, 1976; DUCOMMUN *et al.*, 1979; NOONAN, 1981; AGUILERA-TEJERO *et al.*, 1988; MULLEN *et al.*, 1994; CENTER, 1996c; TURGUT *et al.*, 1997). A lesão hepática causada pela intoxicação por  $\text{CCl}_4$ , uma necrose centro-lobular com sutil transformação gordurosa, apresenta reversibilidade, poucos riscos para a saúde dos pesquisadores envolvidos, além de apresentar baixo custo para a execução (TERBLANCHE *et al.*, 1991). O modelo é satisfatório para a medicina comparativa, entretanto, o item uniformidade já foi debatido por alguns autores (TERBLANCHE *et al.*, 1991). Entretanto, nos cães, a uniformidade das lesões hepáticas obtidas com o protocolo de intoxicação por  $\text{CCl}_4$  parece ser muito boa (AGUILERA-TEJERO *et al.*, 1988). Um pesquisador recomenda a administração conjunta de fenobarbital, para induzir enzimas microssomais, no intuito de tornar a uniformidade das lesões provocadas pelo  $\text{CCl}_4$  ainda melhor (TERBLANCHE *et al.*, 1991).

O efeito tóxico do  $\text{CCl}_4$  depende do metabolismo "suicida" desta substância pelos hepatócitos. Sabe-se que os radicais livres formados no metabolismo hepático do  $\text{CCl}_4$ , assim como no de outros compostos orgânicos (nitrofurantoína e Paraquat), atacam as ligações insaturadas de ácidos graxos causando peroxidação lipídica que danifica a membrana lipoprotéica dos

próprios hepatócitos fosfolipases A e C, que desencadeiam a formação de uma série de mediadores da inflamação.

Dentre os diversos protocolos sugeridos para modelos experimentais de insuficiência hepática aguda com CCl<sub>4</sub>, vários autores indicam que a dose ideal a ser administrada, por via intra-gástrica, independente da espécie, é aquela capaz de produzir necrose hepática severa e imediata sem levar o animal à morte (TERBLANCHE *et al.*, 1991). Vale lembrar que NOONAN (1981) e AGUILERA-TEJERO *et al.* (1988) obtiveram excelentes resultados com as doses de 1ml/kg a 1,5 ml/kg de CCl<sub>4</sub>, respectivamente.

Outros modelos experimentais de hepatopatias em animais aceitos pela comunidade científica incluem modelos cirúrgicos, como a hepatectomia total, modelos de desvascularização produzindo comunicação entre o sistema porta-hepático e a veia cava, a administração de substâncias como acetaminofen (paracetamol), galactosamina e dimetilnitrosamina, a utilização de anestésicos como os derivados do halotano e métodos cirúrgicos combinados a administração de drogas (TERBLANCHE *et al.*, 1991).

## **2.4 Níveis Séricos de Alanina aminotransferase (ALT)**

A análise bioquímica do soro pode ser empregada no intuito de se investigar a presença ou não de hepatopatia. Os testes bioquímicos, que podem servir como parâmetros na avaliação hepática, podem ser divididos em testes de atividade sérica de enzimas e testes de função hepática.

As enzimas hepatocitárias literalmente extravasam para a circulação após o rompimento da membrana dos hepatócitos decorrente de uma agressão. Entre os testes de atividade sérica das chamadas enzimas de extravasamento, incluem-se a dosagem dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), sorbitol desidrogenase (SD), lactato desidrogenase- isoenzima 5 (LDH<sub>5</sub>) e glutamato desidrogenase (GLDH). Existem outras enzimas, como a fosfatase alcalina

(FA) e a gama-glutamyltransferase (GGT), cuja produção é estimulada por colestase ou por ação de drogas.

Os testes de função hepática podem ser subdivididos em mensuração sérica de substâncias produzidas pelo fígado, como albumina, uréia, fatores de coagulação e glicose e mensuração de substâncias dependentes do processamento metabólico ou excreção hepática, como bilirrubina, ácidos biliares, amônia, colesterol e alguns pigmentos como a bromosulfaleína (CORNELIUS, 1985a&b; STROMBECK *et al.*, 1991c).

O citoplasma dos hepatócitos dos mamíferos, excluindo-se os eqüinos e ruminantes, é rico em transaminases, principalmente em alanina aminotransferase (MEYER *et al.*, 1992). O “extravasamento” de transaminases para o soro após uma lesão hepática ocorre instantaneamente e a detecção de níveis séricos elevados de ALT já se torna possível dentro de poucas horas. Valores altos de ALT no soro sugerem lesão hepática difusa, especialmente se o paciente apresentar icterícia. Entretanto, em alguns casos, pode não existir correlação direta entre os níveis séricos de ALT e a severidade da doença hepática devido a grande variação individual (CENTER, 1996a; CENTER, 1996b). Em certas doenças hepáticas crônicas, especialmente na cirrose severa, os níveis séricos de ALT podem apresentar-se normais ou apenas discretamente elevados, produzindo resultados falsamente negativos para lesão hepática. Da mesma maneira, a exemplo do que acontece com a aspartato aminotransferase (AST), níveis moderadamente elevados de ALT no soro podem ser resultantes de lesões nos músculos esqueléticos, e não exclusivamente de uma hepatopatia (MEYER *et al.*, 1992; CENTER, 1996a).

A meia-vida das transaminases no soro é relativamente curta, apresentando uma média de 5 horas. Portanto, na ausência de lesão hepática crônica ou de necrose muscular maciça, a mensuração sequencial dos níveis séricos de ALT permite traçar um perfil cronológico da evolução de uma lesão hepática e, até mesmo, traçar o prognóstico (CENTER, 1996c). Na necrose hepática aguda provocada por substâncias como o tetracloreto de carbono e a dimetilnitrosamina, a ALT é abundantemente liberada na circulação, atingindo o pico da concentração em 48 a 72 horas (VAN VLEET *et al.*, 1968; CENTER, 1996c).

### ***2.5 Sinais Clínicos da Insuficiência Hepática Aguda***

Os sinais clínicos da insuficiência hepática aguda são inespecíficos e assemelham-se muito aos observados em outras doenças sistêmicas. Os sinais mais comumente observados são anorexia, depressão, vômito, diarreia, além de poliúria e polidipsia ocasionais. Entretanto, tratando-se de lesões hepáticas causadas por xenobióticos, é difícil discernir quais os sinais causados primariamente pela ação direta do agente tóxico nas mucosas gástrica ou entérica, no momento da sua absorção, daqueles causados secundariamente em decorrência da insuficiência do fígado (ROGERS, 1986; JOHNSON, 1995; CENTER, 1996b; DIMSKI, 1997). Em lesões severas do fígado, podem ser observados sinais de encefalopatia hepática em consequência de uma hiperamonemia. Na insuficiência hepática fulminante em cães, principalmente aquelas ocasionadas por xenobióticos, pode-se observar melena (JOHNSON, 1995; DIMSKI, 1997).

Na palpação abdominal dos cães com insuficiência hepática aguda, o fígado pode ou não estar aumentado de tamanho. Entretanto, invariavelmente o paciente mostra sinais de dor à palpação causado pela distensão da cápsula do órgão devido, principalmente, ao edema inflamatório (JOHNSON, 1995).

## **2.6 Biópsia Hepática**

Atualmente, tanto na medicina como na medicina veterinária, sabe-se que a biópsia hepática é considerada como o melhor método isolado de diagnóstico das alterações patológicas do fígado (KRISTENSEN *et al.*, 1990; SHERLOCK, 1991; JACKSON, 1996). O termo biópsia pode ser definido como remoção de um fragmento de tecido de um organismo vivo para fins de diagnóstico (OSBORNE *et al.*, 1974).

Segundo a pesquisa realizada por SHERLOCK (1991b), a primeira biópsia hepática foi realizada por Paul Ehrlich, em 1883, em um estudo do conteúdo do glicogênio no fígado de um paciente apresentando diabetes. Posteriormente, Lucatello em 1895, na Itália, realizou punção de um abscesso hepático. O primeiro trabalho relatando o resultado de uma série de biópsias hepáticas de neoplasias e cirrose foi publicado por Schüpfer em 1907, na França. Todos os trabalhos pioneiros citados sobre a técnica de biópsia foram considerados muito promissores na época, entretanto, foi só na década de 30 que ela obteve maior popularidade, principalmente, graças aos trabalhos de Huard e colaboradores em 1935, na França e Baron, em 1939, nos Estados Unidos da América.

Durante a II Guerra Mundial houve grande desenvolvimento das técnicas de biópsia hepática, principalmente devido a necessidade de investigação dos casos de hepatite viral que afetava muitos dos soldados em combate. Hoje, quase todos os Médicos brasileiros e Médicos Veterinários norte-americanos aprendem a fazer biópsias hepáticas no decorrer do seu treinamento. No Brasil, infelizmente, são poucos os cursos de veterinária que ensinam esta técnica. As indicações e as formas de executá-la mudaram, porém as complicações são mais bem conhecidas e os riscos diminuíram (SHERLOCK, 1991).

De modo geral, a biópsia hepática pode ser realizada por acesso transabdominal ou transtorácico. O acesso transtorácico é considerado como o mais eficiente para a biópsia hepática em cães e gatos (WILBER *et al.*, 1967; OSBORNE *et al.*, 1967; OSBORNE, 1971; CENTER, 1996). Após a depilação e anti-sepsia da área, a agulha é introduzida entre o oitavo ou nono espaço

intercostal, numa região levemente dorsal à junção costochondral, sendo direcionada caudodorsalmente (MEYER, 1996).

Os instrumentos utilizados na realização de biópsias hepáticas são denominados agulhas de biópsia e podem ser divididos em agulhas de aspiração, como as agulhas de Menghini e Jamshidi, e agulhas cortantes, também chamadas tipo guilhotina, como as agulhas "Tru-cut" e Vim-Silverman (MEYER, 1996). Todos os tipos de agulhas para biópsia hepática disponíveis no comércio, se forem bem utilizadas, fornecem amostras de dimensões suficientes para o diagnóstico histológico. Diferentemente das agulhas de aspiração, as agulhas do tipo guilhotina permitem a obtenção de amostras teciduais mesmo em fígados cirróticos (CENTER, 1996; MEYER, 1996).

As amostras de parênquima hepático proveniente de biópsias são geralmente fixadas em formol a 10% ou solução de Bouin. O processamento histológico, inclusão em parafina e secção do bloco são realizados do mesmo modo utilizado nos fragmentos teciduais colhidos na necropsia. A coloração também pode ser realizada de modo rotineiro pela hematoxilina de Harris e eosina (MEYER, 1996).

Deve-se levar em consideração que as amostras obtidas nas biópsias hepáticas correspondem as porções mais superficiais do fígado. Estas regiões, em alguns animais, podem apresentar-se mais fibróticas mimetizando alterações de cirrose hepática. Alguns fatores como anestesia e cirurgia fazem com que neutrófilos migrem para as regiões mais superficiais do fígado, principalmente logo abaixo da cápsula. Geralmente, biópsias hepáticas, mesmo de cães saudáveis, apresentam infiltração sutil de neutrófilos (ROTH *et al.*, 1995; MEYER, 1996). Entretanto, nenhum destes fatores parece comprometer a importância deste método auxiliar de diagnóstico. Em um estudo comparativo realizado em cães hepatopatas que vieram a óbito, BROBST *et al.* (1972) observaram que o laudo do exame histopatológico das amostras de tecido hepático colhidas na ocasião da necropsia apresentavam alta correlação com o laudo histopatológico de amostras colhidas, previamente, por meio de biópsia percutânea transtorácica. EDWARDS (1977), em estudo semelhante, também obteve resultados extremamente satisfatórios na correlação entre laudos histopatológicos de tecidos hepáticos colhidos em biópsias e em necropsia.

Todavia, o fígado pode apresentar apenas uma lesão focal e a área correspondente a esta lesão pode não ser alcançada pela agulha de biópsia, tal fato pode comprometer seriamente a acurácia do laudo do exame histopatológico (EDWARDS, 1977). A utilização do exame ultra-sonográfico ou tomográfico para a localização destas áreas, ou mesmo servindo como "guia" para a introdução da agulha de biópsia, minimiza muito este risco em relação à chamada biópsia cega (PENNINCK *et al.*, 1993; TIDWELL *et al.*, 1994a&b; KERWIN, 1995)

#### 2.6.1 Possíveis complicações ocasionadas pela biópsia hepática

As alterações anatômicas são freqüentes e o tamanho do fígado varia em cada indivíduo. Se o fígado for pequeno, pode não ser penetrado pela agulha de biópsia e, em decorrência da variação anatômica, pode ocorrer punção da vesícula biliar ou de grandes vasos hilares. A realização prévia de exames ultra-sonográficos ou de tomografia computadorizada, no intuito de checar eventuais alterações do tamanho do fígado, localização da vesícula biliar e alterações anatômicas, reduz substancialmente os riscos de acidentes (SHERLOCK, 1991b; HITT *et al.* 1992). Os acidentes já relatados na literatura veterinária causados por biópsia hepática transtorácica incluem perfuração da vesícula biliar, colheita de fragmentos de pulmão ou diafragma, hemoperitônio, hemotórax e pneumotórax (OSBORNE *et al.*, 1974; EDWARDS, 1977; FELDMAN *et al.*, 1987; LÉVEILLÉ *et al.*, 1993).

## 2.6.2 Anestesia para a realização de biópsia hepática

Na realização de biópsias intracavitárias, há necessidade de contenção absoluta do paciente, permitindo que estruturas anatômicas regionais sejam reconhecidas, o órgão-alvo seja identificado e o ponto de penetração e a direção/angulação da agulha não sejam alterados (OSBORNE *et al.*, 1974). Isto posto, levando-se em conta a impossibilidade de cooperação por parte do paciente, torna-se clara a necessidade do emprego da anestesia geral, inalatória ou injetável, na realização destes procedimentos em animais. Somente nos casos em que o paciente está severamente debilitado e há risco eminente de vida, lança-se mão de técnicas anestésicas locais ou regionais. Na seleção do agente anestésico deve-se optar pelo emprego de um agente seguro, que induza bom relaxamento muscular e analgesia. Um fator importante a ser considerado na realização de biópsias intracavitárias é que o agente anestésico não pode depender exclusivamente da metabolização e/ou eliminação do órgão em que será realizada a biópsia, uma vez que trabalha-se com a hipótese de comprometimento da sua função normal. Sabe-se que muitos agentes anestésicos podem induzir lesões hepáticas, como é o caso da cetamina e do halotano (SHERDING, 1985) fato que torna estes anestésicos inapropriados para o estudo histopatológico de hepatopatias experimentais.

Muito se discute a respeito da metabolização do agente anestésico intravenoso propofol. Alguns pesquisadores acreditam que o propofol é conjugado em compostos inativos pelo fígado, sendo posteriormente eliminado pelos rins (ROBINSON *et al.*, 1995). Já outro pesquisador acredita que a metabolização do propofol ocorre no pulmão porque foram encontrados receptores para a molécula do anestésico neste órgão (GREENE, 1996). Além disto, o propofol, após a administração por via intravenosa, desaparece da circulação de maneira muito rápida, incompatível com a velocidade do fluxo sangüíneo hepático (GREENE, 1996). Sabe-se também que a anestesia com propofol não resulta em elevação dos níveis séricos de enzimas hepáticas como a alanina aminotransferase e aspartato amino transferase ou de uréia e creatinina, mesmo quando empregada repetidas vezes no mesmo paciente

(BOTELHO *et al.*, 1996). Ao que tudo indica, o tempo de despertar da anestesia com o propofol é muito semelhante em cães normais e em cães com necrose centro-lobular hepática (LINDGREN, 1994; FERREIRA *et al.*, 1997a). Todas estas características tornam o propofol, dentre os agentes anestésicos injetáveis, o mais propício para se trabalhar com modelos experimentais de hepatopatias.

## **2.7 Regeneração Hepática**

O conhecimento da grande capacidade de regeneração hepática não é um fato novo na história do homem. Na mitologia grega, por exemplo, encontra-se uma citação importante a respeito da capacidade de regeneração deste órgão. Diz-se por vezes que um dos filhos do titã Japeto, cujo nome era Prometeu, tinha grande simpatia pelos homens. Por ordem de Zeus os mortais não podiam em, hipótese alguma, conhecer o fogo. Entretanto, por compaixão, Prometeu escondeu o fogo dentro num tronco oco e o trouxe aos mortais na terra. Como vingança, Zeus acorrentou Prometeu no Cáucaso com correntes de ferro e pediu que uma águia devorasse-lhe parte do fígado e retornasse toda vez que o órgão tivesse “renascido” para continuar a tarefa. O suplício durou até o dia em que Hércules, com uma flecha abateu a águia e libertou Prometeu (GRIMAL, 1987).

Sabe-se que até 70% do fígado pode ser removido cirurgicamente e que dentro de poucas semanas volta ao seu tamanho original. A regeneração hepática pode ser ainda mais rápida nas lesões causadas por agentes tóxicos. Tal fato ocorre devido a permanência de uma “moldura” composta por esqueletos celulares, após o contato com o agente tóxico, por onde novos hepatócitos podem se guiar (KELLY, 1993).

A regeneração hepática deve ser considerada como uma resposta natural às agressões hepáticas (STROMBECK *et al.*, 1991b; STROMBECK *et al.*, 1991e; KELLY, 1993).

Segundo KELLY (1993), na necrose centro-lobular os hepatócitos sobreviventes na região peri-portal podem, após aproximadamente 24 horas, iniciar uma regeneração rápida em direção à área lesada.

## **2.8 A Evolução dos Métodos de Diagnóstico por Imagem das Alterações Hepáticas em Pequenos Animais**

A ciência médica vem avançando substancialmente na tentativa de obter, de maneira não invasiva, imagens de diversos órgãos com vistas a identificar a existência de alterações sugestivas de disfunção e, quando possível, diagnosticar uma eventual doença. Estes métodos são agrupados sob a denominação genérica de diagnóstico por imagem. Durante os anos 80, talvez até o início dos anos 90, a ultra-sonografia era um procedimento quase que utópico na Medicina Veterinária brasileira, uma vez que os aparelhos eram extremamente caros e havia a necessidade de treinamento, possível somente no exterior, para a formação de um profissional apto a realizar o exame. Atualmente, a ultra-sonografia é uma realidade nas boas instituições de ensino de Medicina Veterinária brasileiras, sendo possível até formar profissionais extremamente capacitados sem haver a necessidade de sair do país. A ultra-sonografia tornou-se o principal instrumento de diagnóstico por imagem para a avaliação estrutural da maioria dos órgãos parenquimatosos, principalmente fígado, sistema biliar e rins (RUSTGI *et al.*, 1989; BILLER *et al.*, 1992). Com a evolução tecnológica e industrial, a tecnologia necessária para a manufatura dos equipamentos de ultra-sonografia tornou-se menos sofisticada. Como consequência disto, estes aparelhos tornaram-se economicamente mais acessíveis.

Sabe-se que a ultra-sonografia é extremamente útil no diagnóstico de lesões hepáticas focais, como neoplasias primárias ou secundárias, cistos, abscessos e granulomas (SCHEN *et al.*, 1979; BILLER *et al.*, 1992). Todavia, a ultra-sonografia possui limitações, principalmente naquelas lesões difusas do parênquima hepático (HENRIKSSON *et al.*, 1987). Na ultra-sonografia, cristais

piezoelétricos, localizados no transdutor do aparelho, captam o eco do ultrassom emitido e a imagem é formada numa tela osciloscópica. Como não se atribuem valores numéricos para diferentes graus de ecogenicidade obtidos na imagem dos parênquimas dos órgãos, o examinador depende da própria experiência para diagnosticar as alterações difusas. Em alguns casos de doença hepática, um fígado apresentando lesão difusa pode parecer muito com um fígado normal (RUSTGI *et al.*, 1989). No exame ultra-sonográfico, sugere-se que o fígado apresenta doença difusa somente quando há diferenças de ecogenicidade em relação o córtex renal ou baço, órgãos que funcionam como parâmetro de ecogenicidade hepática para o ultra-sonografista (BILLER *et al.*, 1992), entretanto, tal avaliação é bastante subjetiva e extremamente dependente da proficiência do examinador (SCHEN *et al.*, 1979).

Previamente à difusão da técnica de ultra-sonografia, uma alternativa ao exame ultra-sonográfico bastante estudada nas instituições de ensino e pesquisa norte-americanas na avaliação de lesões focais ou difusas do fígado, foi a cintigrafia nuclear. A cintigrafia nuclear é um exame baseado na detecção de colóides sulfurados marcados com radioatividade, geralmente utilizando o tecnécio - 99m que, após ser administrado por via intravenosa, é removido da circulação por células do sistema reticuloendotelial, localizadas principalmente no baço, medula óssea e fígado (LAMB, 1996).

Na realização de cintigrafias, a substância radio-marcada concentra-se em tecidos hepáticos mais saudáveis, uma vez que o colóide é removido por células de Kupffer. De modo geral, a imagem obtida no exame de cintigrafia apresentava baixa resolução anatômica, sendo que lesões sutis ou de localização profunda passavam despercebidas. Massas focais de qualquer natureza no parênquima hepático, como cistos ou neoplasias, geralmente não retêm o marcador radioativo (HENRIKSSON *et al.*, 1987; RUSTGI *et al.*, 1989; PENNINGCK *et al.*, 1997). Em doenças hepáticas difusas como a cirrose, devido ao grande comprometimento funcional do órgão somado ao aporte sanguíneo diminuído, há pouca difusão da substância marcada, tornando o exame menos confiável ainda. Entretanto, o uso e as indicações da cintigrafia diminuíram muito devido a melhor resolução anatômica da ultra-sonografia sem contar a

praticidade e possibilidade de se examinar vários tecidos abdominais de uma só vez (RUSTGI *et al.*, 1989).

Uma variação da técnica é a chamada cintigrafia hepatobiliar, que consiste na administração do ácido diisopropil iminodiacético, um análogo da bilirrubina marcado com tecnécio - 99m. Esta substância é absorvida pelos hepatócitos e, em seguida, eliminada para o sistema biliar, permitindo assim o registro fotográfico seqüencial de sua excreção pela bile (PENNINCK *et al.*, 1997). Outra variação de cintigrafia hepática, a chamada cintigrafia portal, objetiva detectar exclusivamente comunicações portosistêmicas congênitas, após a administração do tecnécio - 99m ou do <sup>123</sup>I- iodoanfetamina (LAMB, 1996).

Recentemente, uma técnica especial de cintigrafia, a chamada tomografia computadorizada por emissão de fótons isolados (SPECT), foi criada para contornar a maioria dos problemas apresentados pela cintigrafia. A técnica combina a tomografia computadorizada com a cintigrafia. Através da SPECT obtém-se imagens tridimensionais utilizando substâncias radioativas, como o tecnécio - 99m ou o tálio - 201 (WOLFF, 1988). Alguns trabalhos relatando o emprego desta nova técnica em animais apresentando problemas hepáticos já foram publicados, como no diagnóstico de obstruções biliares extra-hepáticas (BOOTHE *et al.*, 1992) ou na detecção de neoplasias no parênquima hepático (WOLFF *et al.*, 1988). No entanto, esta técnica nova ainda não está amplamente difundida tanto entre Médicos como entre Médicos Veterinários, pela complexidade do equipamento necessário ou por ser um método muito dispendioso. Mesmo assim, persiste o inconveniente da impossibilidade de se examinar vários órgãos de uma só vez (RUSTGI *et al.*, 1989; LAMB, 1996).

Depois da ultra-sonografia, a tomografia computadorizada é a alternativa mais acessível de exame hepático. Muitas escolas norte-americanas de medicina veterinária já dispõem do aparelho e centenas de publicações já foram realizadas desde o início da década de 80 (RUSTGI *et al.*, 1989; FEENEY *et al.*, 1992; SMALLWOOD *et al.*, 1993; OWENS, 1995).

Uma das mais novas técnicas de diagnóstico por imagem introduzida no meio médico é a ressonância magnética. Esta técnica utiliza magnetismo e

ondas de rádio de alta frequência para detectar os efeitos sobre átomos de hidrogênio (prótons) nos tecidos normais e/ou anormais (RUSTGI, *et al.*, 1989; DENNIS, 1993). Durante o procedimento, o paciente é colocado no centro de um campo magnético extremamente forte, fazendo com que os prótons de todos os tecidos permaneçam alinhados contra ou a favor do campo magnético criado. Subseqüentemente, “bombardeia-se” o paciente com ondas de rádio em uma frequência específica por um breve momento, causando alterações no alinhamento dos prótons que, após passado o estímulo, voltam a se alinhar de acordo com o campo magnético. Tal fenômeno de realinhamento é chamado de relaxamento. O relaxamento pode ocorrer nos planos verticais e horizontais, chamados relaxamentos T1 e T2 respectivamente. Devido ao relaxamento, sinais de pequenas ondas de rádio são reemitidos pelos diferentes tecidos, quer seja em tempo T1 ou em tempo T2. A força desta reemissão varia de acordo com o tecido. Os sinais reemitidos são então detectados por uma antena e em seguida, convertidos em imagem por um computador através de um processo matemático. A frequência de captação dos sinais pode ser modificada no intuito de gerar imagens de padrões diferentes (DENNIS, 1993). A ressonância magnética produz uma imagem de alta resolução anatômica e alto contraste tecidual. Se o estudo da tomografia computadorizada ainda é jovem na medicina veterinária, a ressonância magnética está na infância (DENNIS, 1994). Entre vários trabalhos já publicados utilizando a ressonância magnética, na medicina veterinária, estão a descrição da anatomia normal do cérebro de cães (PARK *et al.*, 1987), anatomia dos membros distais de eqüinos (KRAFT *et al.*, 1989) e trabalhos sobre lesões de tendões de eqüinos (CRASS *et al.*, 1992). Contudo, no exame da cavidade abdominal abdominal, a tomografia computadorizada pode até ser superior, principalmente na análise de lesões difusas do tecido hepático, que a própria ressonância magnética convencional realizada por aparelhos do tipo “Higher Field Strenght”, desenvolvidos para a neurologia, que são os aparelhos mais comumente encontrados nos grandes centros médicos. Somente um tipo especial de aparelho de ressonância magnética, o “Intermediate Field Strenght”, é superior à tomografia computadorizada do fígado (RUSTGI *et al.*, 1989). Certamente,

outro fator que limita a maior difusão do exame por ressonância magnética na medicina veterinária é o alto custo dos aparelhos (DENNIS, 1994).

Apesar do desenvolvimento do moderno método de ressonância magnética, o exame por tomografia computadorizada ainda é, definitivamente, um procedimento recente na prática médica. Talvez por este motivo muitas possibilidades do exame tomográfico não foram exploradas em sua plenitude na Medicina Veterinária. Mesmo que para alguns a tomografia possa parecer utópica no Brasil, principalmente devido ao fator econômico, não se deve esquecer que a ultra-sonografia, num passado recente, também já foi. Certamente, o exame de tomografia computadorizada será uma realidade como método de diagnóstico dentro de alguns anos na Medicina Veterinária brasileira. Entretanto, antes que qualquer método de diagnóstico por imagem seja considerado eficiente, deve-se conhecer com detalhes a apresentação normal de cada tecido, como também as alterações espécie-específicas em todos os processos patológicos e em todos os órgãos possíveis de serem examinados (SMALWOOD *et al.*, 1993).

## **2.9 Tomografia Computadorizada**

Godfrey N. Hounsfield, um físico inglês nascido em 1919, trabalhou com radares e radiocomunicação para a Força Aérea Britânica ("RAF"). Ao entrar para a "Electro Musical Industries Limited" (EMI) participou da equipe que construiu, em 1958, o primeiro computador totalmente transistorizado da Grã-Bretanha. Entretanto, nenhuma destas importantes atividades tornou-o tão ilustre e mundialmente conhecido como quando, em 1972, criou a máquina de tomografia axial transversa computadorizada. Tal criação levou-o a receber inúmeras honrarias médicas e acadêmicas e a tornar-se membro da Sociedade Real Britânica em 1975.

O trabalho pioneiro de Hounsfield foi efetuado nos laboratórios de pesquisa da EMI em Middlesex, Inglaterra. A idéia inicial que inspirou Hounsfield, no início dos anos 60, a desenvolver o aparelho de tomografia computadorizada foi baseada nos trabalhos de J. Radon, matemático austríaco

que, em 1917 provou que um objeto tridimensional poderia ser reconstruído a partir de um conjunto de suas projeções. Com o auxílio de um professor de engenharia, Hounsfield desenvolveu o protótipo do que seria o primeiro equipamento de tomografia. O protótipo utilizava um torno e o objeto a ser examinado constituía-se de um conjunto de peças de plástico fixado numa porção móvel que durante o teste girava em ângulos desejados. Para irradiar o objeto, foram utilizados raios gama obtidos de uma fonte de amerício. A irradiação originária desta fonte era avaliada por detectores de cristal de iodeto de sódio e os sinais obtidos pelos detectores eram transmitidos a um computador programado para reprodução bidimensional das peças examinadas. O processamento levou nove dias para ser concluído, dada à baixa intensidade da fonte de radiação (MINGUETTI *et al.*, 1981; ALZUGARAY, 1995).

Em 1967 ocorreu o feliz encontro de Hounsfield com o radiologista J. Ambrose em Londres. Ambrose vinha, desde 1961, trabalhando com ultra-som na tentativa de elaborar um aparelho capaz de reproduzir uma imagem cerebral com razoável detalhe mas, após inteirar-se das teorias de Hounsfield, abandonou completamente a ultra-sonografia, dedicando-se exclusivamente ao trabalho conjunto com o físico inglês. Ainda em 1967, Hounsfield e Ambrose fizeram uma segunda experimentação, desta vez utilizando uma ampola comum de raios X para a reprodução de imagens de um cérebro, colocado num recipiente de plástico. Havia um tumor no terceiro ventrículo que pôde ser perfeitamente visualizado após a reconstrução computadorizada da imagem (MINGUETTI *et al.*, 1981).

O primeiro aparelho a ser introduzido em uso clínico foi desenvolvido sob o patrocínio do "British Department of Health and Social Security", e instalado no Hospital Atkinson Morley, em Londres, em outubro de 1971. A primeira tomografia computadorizada foi realizada em uma mulher de 41 anos com suspeita de um tumor no lobo frontal esquerdo. O exame mostrou com perfeição a localização e as reais dimensões do tumor. Este equipamento foi testado clinicamente durante, aproximadamente, 18 meses antes da primeira comunicação de Hounsfield e Ambrose de uma nota prévia sobre o novo método radiológico no Congresso Anual do "British Institute of Radiology", em

abril de 1972 (MATTOSO *et al.*, 1987; ALZUGARAY, 1995). No Brasil, Hounsfield foi agraciado com a Ordem do Cruzeiro do Sul durante o Congresso Internacional de Radiologia realizado no Rio de Janeiro em 1977. Em 11 de outubro de 1979, Hounsfield foi indicado pela academia Sueca para o Prêmio Nobel de Medicina daquele ano. Curiosamente, Hounsfield não possuía qualquer grau de formação Médica formal.

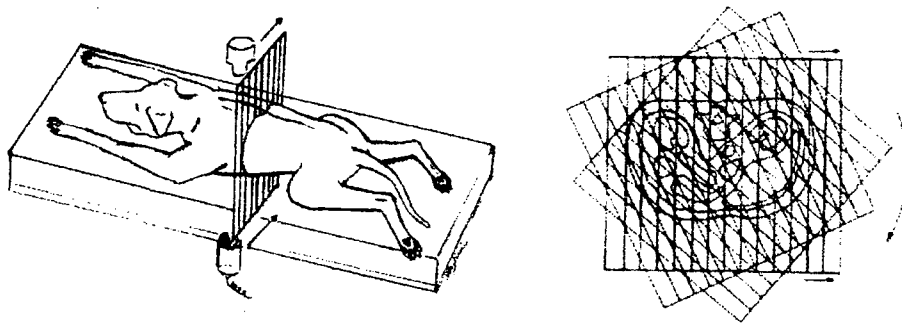
Existem controvérsias a respeito do fato de Hounsfield ser o pioneiro da criação do sistema de tomografia computadorizada. Existem relatos que o neurologista William H. Oldendorf, abriu todo o caminho para a tomografia descrevendo um sistema experimental que, em teoria seria capaz de reproduzir as secções transversais de estruturas intracranianas de radiodensidades diferentes. Oldendorf dedicou-se a tal extenuante tarefa matemática e física movido pela necessidade imperiosa que ele mesmo sentia no manejo diário de seus pacientes, freqüentemente submetidos às agruras das angiografias, pneumoencefalografias e ventriculografias de resultados diagnósticos bastante relativos. Pode-se concluir que Oldendorf foi um dos grandes criadores teóricos do sistema de tomografia, mas foi Hounsfield quem aprimorou a teoria e a colocou em prática graças ao seu acesso à mais moderna tecnologia disponível na época (MINGUETTI *et al.*, 1981; ALZUGARAY, 1995).

### 2.9.1 Análise do Método

A tomografia computadorizada, previamente conhecida por tomografia axial computadorizada (TAC), utiliza para obtenção de imagens uma série de feixes de raios X, estreitos, altamente colimados que, após sofrerem atenuação pelos tecidos examinados, são captados por detectores de cintilação de grande eficiência do tipo "low noise detectors" alinhados sempre em oposição e em foco com a fonte de radiação (HOUNSFIELD, 1973). Atenuação nada mais é do que a redução da intensidade que um feixe de raios X sofre ao atravessar um objeto ou tecido. Existem dois tipos de detectores, os de cristal e os que contém gás especial (geralmente xenônio). Para os aparelhos convencionais, que requerem poucos detectores, são utilizados os de cristal, enquanto os que

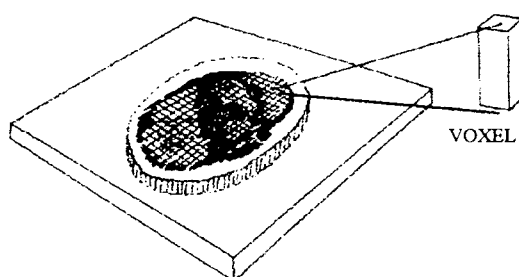
contém gás são usados nos tomógrafos de última geração, que requerem um grande número de detectores. O paciente, sob efeito de anestesia geral, é movido horizontalmente por uma mesa automatizada para dentro de um túnel, chamado de “gantry” em que se localizam as fontes de raios X (FERREIRA *et al.*, 1998).

Deste modo, torna-se possível analisar imagens (fatias ou tomos) seqüenciais, que podem variar, dependendo do ajuste, de 1 a 10 mm de espessura, podendo ser contíguos ou sobrepostos. Através de movimentos de rotação da fonte de radiação ao redor do paciente, obtêm-se projeções multiangulares da mesma região anatômica, formando algo como se fosse uma fatia de determinada região do corpo (Figura 4). Segundo BLUEMKE (1995), com o auxílio de um computador, e de um programa de reconstrução de imagens, as informações provenientes de estruturas sobrepostas são eliminadas, por técnicas matemáticas lineares e não lineares, e a imagem é reconstruída na forma de uma malha, grade ou matriz de pontos de tecido (Figura 4).



**Figura 4** - Representação esquemática do posicionamento do paciente no e da projeção multiangular de raios X que formará a imagem na tela do computador.

Na reconstrução da imagem, cada ponto resultante do cruzamento dos raios X é chamado de “pixel” e de acordo com o valor de atenuação dos raios (radiodensidade) recebe um valor numérico. A cada valor numérico é atribuído um tom de cinza (“Gray-Scale”) na composição de uma imagem bidimensional na tela de um computador. Os tecidos de menor radiodensidade aparecem mais escuros e os de maior densidade aparecem mais claros, de forma semelhante a uma radiografia convencional. No entanto, em contraste com as radiografias convencionais, cada corte ou secção de tomografia tem uma espessura que pode ser determinada. O valor numérico corresponde à radiodensidade de um pequeno volume (tridimensional) de tecido é chamado de “voxel” (Figura 5). Os valores numéricos da radiodensidade de cada “voxel” são calculados sempre em relação ao coeficiente de absorção linear da água, para o qual é atribuído o valor numérico de 0, em uma escala que pode variar, geralmente, de  $-1000$  a  $+3000$ . Os ossos estariam na mais alta faixa positiva da escala e o ar das vias respiratórias e trato digestório na mais baixa negativa. Em homenagem ao criador do método, a unidade dos valores de radiodensidade são denominadas Unidades Hounsfield (UH) (MATTOSO *et al.* 1987; TUCKER *et al.*, 1996).



**Figura 5** - Representação esquemática de um voxel formado em tons de cinza na tela de um computador. Segundo MATTOSO & PERDIGÃO, 1987.

Na composição da imagem na tela do computador, podem-se ajustar o brilho e o contraste da imagem utilizando os controles chamados “janela” (“window”) e “centro” (“center”). “Janela” é o principal parâmetro de controle e “centro” corresponde a um ajuste fino da imagem. Para cada tipo de órgão a

ser examinado sugere-se um tipo de ajuste para otimizar a leitura da imagem. É importante lembrar que em termos de ajuste do aparelho, por mais clara ou escura que a imagem pareça, os valores das Unidades Hounsfield (UH) não se alteram (Tabela 1).

**Tabela 1-** Sugestão de ajuste de janela e centro para o exame tomográfico de alguns órgãos e tecidos em pequenos animais

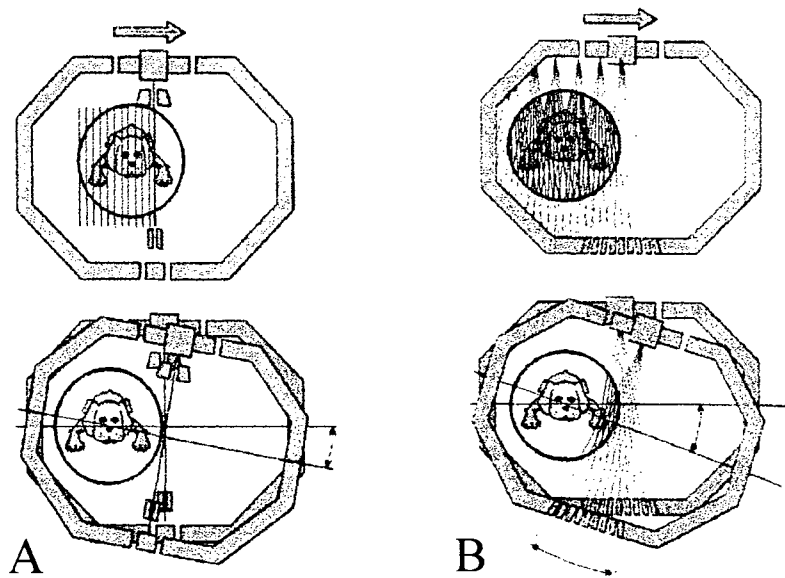
Tecido	Janela	Centro
Órgãos parenquimatosos (fígado, baço e rins)	150 a 400	15 a 50
Encéfalo e medula	80 a 150	15 a 50
Osso	1000 a 4000	200 a 400
Pulmão	1500 a 2000	-800

Pode-se lançar mão da administração de contrastes iodados de administração intravenosos, como o iopamidol, na dose de 0,5 a 1,0 ml/kg, no intuito de proporcionar melhor contraste a uma determinada região. Esta técnica é extremamente importante na detecção de neoplasias de pequeno diâmetro ou para realçar, simplesmente, lesões focais (SANDS *et al.*, 1987). O contraste geralmente atravessa a barreira hemato-encefálica no caso de neoplasias intracranianas (PLUMBER *et al.*, 1992) Entretanto, a administração de contrastes altera todos os parâmetros de densidade normais pré-estabelecidos em UH para cada tecido. Por este motivo, quando a finalidade é checar a capacidade geral de atenuação de raios X de um determinado tecido, como no caso de hidrocefalia, atrofia ou necrose, não há a necessidade de se utilizar o contraste. Mesmo quando o exame se beneficiaria do uso do contraste, como no casos de neoplasias focais, recomenda-se a realização de exame prévio para a obtenção de valores de atenuação em UH confiáveis antes da administração do contraste (MINGUETTI *et al.*, 1981).

### 2.9.2 A Evolução dos Aparelhos de Tomografia

Os primeiros tomógrafos criados por Hounsfield foram denominados de EMI Mark I, também chamados de tomógrafos de primeira geração. O padrão de varredura destes tomógrafos consistia na rotação conjunta de uma ampola de raios X e do detector (um ou no máximo dois), seguida de uma pequena translação. O procedimento era repetido até completar  $180^\circ$  (Figura 6A).

Na segunda geração de tomógrafos, ao invés de um detector colocava-se um conjunto de detectores do outro lado da ampola de raios X, de forma que o feixe de raios X formava um leque e não apenas uma linha única de aquisição de dados (Figura 6B). O primeiro tomógrafo de segunda geração foi lançado em 1974, subseqüentemente outros tomógrafos de segunda geração, mais aperfeiçoados e com maior número de detectores, foram lançados no mercado dando um impulso muito grande à tomografia de corpo inteiro, pois eram mais rápidos e diminuía acentuadamente os artefatos de movimento (FERREIRA *et al.*, 1998).

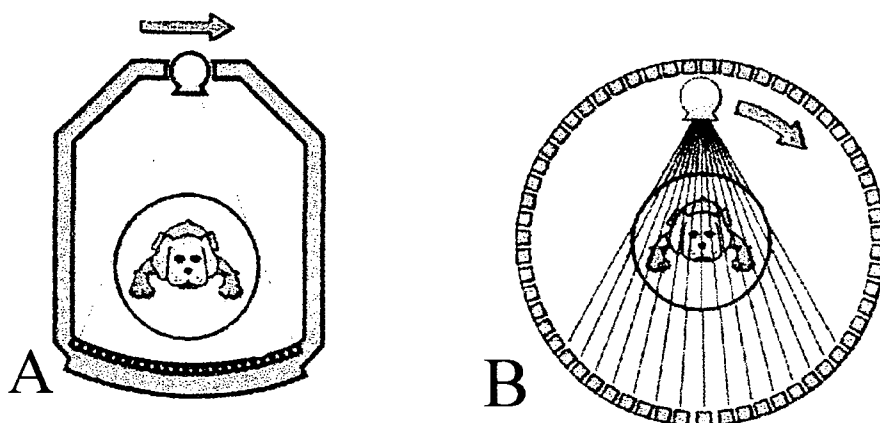


**Figura 6-** A) Representação esquemática do posicionamento do conjunto ampola/detector de raios X, nos aparelhos de tomografia computadorizada de primeira geração. B) Representação do conjunto de receptores utilizado nos aparelhos de segunda geração. Note a presença dos movimentos de rotação e translação nos dois conjuntos.

Na terceira geração de tomógrafos, o movimento de translação foi eliminado, mantendo-se apenas o movimento de rotação e o feixe de raios X foi ampliado graças às novas tecnologias de fabricação de ampolas de raios X e o aumento no número de detectores (Figura 7A), mudando-se completamente a geometria de varredura. O tempo de aquisição tornou-se bem mais curto e a qualidade da imagem melhorou muito. A terceira geração de tomógrafos também foi desenvolvida em 1974, mas foi somente colocada em prática em 1975. Em 1977, foi introduzido o princípio do “geometric enlargement” na terceira geração de tomógrafos, tecnologia que contribuiu muito para o desenvolvimento das técnicas de alta resolução nos tomógrafos subseqüentes (FERREIRA *et al.*, 1998).

Em abril de 1976, foi introduzido o conceito de aparelho de tomografia de quarta geração, que consistia numa ampola de raios X, com movimento de rotação dentro de um conjunto fixo de detectores (Figura 7B). Esses aparelhos, principalmente devido a problemas de tecnologia dos computadores e detectores, matemática de reconstrução, processamento dos sinais e das ampolas de raios X, só puderam entrar efetivamente em uso por volta de 1981.

Entretanto, mesmo com toda esta evolução, grandes volumes corporais (tórax e abdômen) só podiam ser examinados através de cortes individuais (tomogramas) e, dependendo do número de cortes, os pacientes deveriam permanecer durante muito tempo na mesa de exame, ou seja, cerca de 30 a 45 minutos para um exame completo do tórax ou abdômen (antes e depois do contraste).



**Figura 7-** A) Representação da disposição da ampola e dos detectores de raios X nos aparelhos de tomografia computadorizada de terceira geração. B) Representação da capacidade ampla de rotação da ampola de raios X dentro de um conjunto circular de detectores, típico dos aparelhos de quarta geração.

Em 1989, incorporou-se aos aparelhos de tomografia a tecnologia dos anéis deslizantes, que permite a rotação contínua do conjunto ampola-detectores. Esta tecnologia pode ser considerada própria dos tomógrafos de quinta geração. Por reduzir o tempo entre os cortes tomográficos, os tomógrafos de quinta geração permitiram uma redução acentuada do tempo da varredura.

Devido aos avanços alcançados pelos aparelhos de quinta geração, foi possível a introdução do sistema helicoidal dos aparelhos de tomografia computadorizada de sexta geração, capaz de fazer mensurações dos volumes de órgãos, antes possível apenas nos sistemas de ressonância magnética.

Nos aparelhos de tomografia computadorizada mais antigos, antes do lançamento dos tomógrafos de sexta geração, a ampola de raios X gira ao redor do paciente que permanece fixo durante todo o período de uma rotação, necessário à aquisição correta de dados. Por meio de computadores obtêm-se

as imagens através dos monitores do console de operação, que são a partir daí fotografadas. Nos sistemas convencionais, ainda, os dados são transmitidos aos computadores através de cabos fixos conectados aos detectores, sendo os outros cabos ligados à ampola de raios X. Essa técnica, por mais veloz que seja, limita a velocidade dos exames, face ao reposicionamento constante das partes que constituem o sistema e das limitações mecânicas impostas pelos cabos. As paradas periódicas, mudanças de direção do movimento e reposicionamento da ampola e dos detectores dentro do túnel produzem uma demora de 5 a 10 segundos entre os cortes (FERREIRA *et al.*, 1998).

O surgimento dos tomógrafos de sexta geração foi inevitável devido à evolução constante dos computadores, novos programas, novas ampolas de raios X e novos sistemas de aquisição de dados, criando o chamado sistema helicoidal. A tomografia helicoidal introduziu o movimento contínuo da mesa do paciente a uma velocidade fixa, enquanto o conjunto ampola-detectores gira constantemente. Com este sistema é possível a aquisição de informações provenientes de grandes áreas (até um metro de comprimento corporal humano) em apenas 32 segundos para obtenção de aproximadamente 100 cortes. Por permitir a reconstrução volumétrica, este novo estilo de tomografia computadorizada demonstra melhor os vasos abdominais, torácicos e as relações deles com os demais órgãos ou massas neoplásicas. Ele permite ainda a realização de angiografia cerebral, tal qual na ressonância magnética (BLUEMKE *et al.*, 1995; BRINK, 1995).

Um aparelho de tomografia de sexta geração com uma ampola de duplo foco associado a uma fila dupla de detectores foi desenvolvido recentemente. O aparelho é capaz de obter dois cortes tomográficos para cada rotação do sistema. Junto com este aparelho, foram criados alguns programas de computador que, após obterem os valores de atenuação de raios X, realizam a determinação do conteúdo mineral do tecido ósseo e reconstróem imagens tridimensionais coloridas de tecidos e vasos, além de produzir imagens panorâmicas de dimensões exatas dos dentes e seus canais (FERREIRA *et al.*, 1998).

### 2.9.3 Aplicações da Tomografia Computadorizada na Clínica Médica de Pequenos Animais

#### 2.9.3.1 Crânio e Encéfalo

A tomografia é, certamente, a técnica mais apropriada na medicina veterinária para identificar fibroses, calcificações, hemorragias, infarte, doenças inflamatórias, herniações e edema do parênquima do sistema nervoso central, alterações de volume dos ventrículos cerebrais e massas intracranianas (FIKE *et al.*, 1981; KRAFT *et al.*, 1989; GEORGE *et al.*, 1992; PLUMBER *et al.*, 1992; TUCKER *et al.*, 1996). A tomografia também é excelente na detecção de lesões da órbita (LeCOUTEUR *et al.*, 1982).

#### 2.9.3.2 Vértébras e Medula Espinhal

Tanto a tomografia contrastada como a não contrastada podem ser utilizadas na avaliação de neoplasias medulares extradurais, intradurais extramedulares ou intramedulares, alterações do canal medular, protrusões e extrusões de disco e malformações vertebrais (SMALWOOD *et al.*, 1993a).

#### 2.9.3.3 Vias Aéreas Superiores e Tórax

A tomografia pode auxiliar muito no diagnóstico e na delimitação de doenças do trato respiratório superior, principalmente em se tratando de neoplasias da cavidade nasal e do canal nasofaríngeo (BURK, 1992). A tomografia apresenta uma vantagem sobre a ecocardiografia pois pode identificar melhor lesões envolvendo o pericárdio, base do coração, o mediastino e os grandes vasos. É particularmente útil na detecção de tumores na base do coração não visualizados durante a ecocardiografia e na identificação de massas mediastínicas e anomalias de grandes vasos (FIKE & DRUY, 1980).

Com relação ao pulmão, a tomografia computadorizada pode identificar cavitações, metastases e infiltrados intersticiais, além de efusões pleurais. Quando se utiliza o contraste, é possível diferenciar lesões neoplásicas,

vasculares e infecciosas. O exame tomográfico propicia imagens extremamente detalhadas que possibilitam a análise anatômica do mediastino, pleura e diafragma (SMALWOOD *et al.*, 1993a).

#### 2.9.3.4 Abdome e Pelve

No exame dos órgãos abdominais, a tomografia computadorizada pode até ser superior à ressonância magnética. A ressonância magnética convencional realizada por aparelhos do tipo "Higher Field Strenght", desenvolvidos para a neurologia, são os aparelhos comumente encontrados nos grandes centros médicos e não são muito satisfatórios para análise do parênquima hepático, por exemplo. Somente um tipo especial de aparelho de ressonância magnética, o "Intermediate Field Strenght", é superior à tomografia computadorizada para o exame hepático, entretanto, são poucos os centros médicos que o possuem, tanto no Brasil como nos Estados Unidos (RUSTGI *et al.*, 1989; FOLEY, 1991; URHAHN *et al.*, 1991). A tomografia é um excelente método de avaliação das cavidades abdominal e pélvica, pois fornece mais detalhes que um exame ultra-sonográfico ou radiográfico, principalmente no exame de órgãos como a adrenal (ZOOK *et al.*, 1989). O uso do contraste é útil para diferenciar massas mesentéricas de massas intestinais ou estruturas vasculares.

#### 2.9.3.5 Fígado

Em contraste com o abundante material publicado sobre o exame tomográfico do sistema nervoso central de pequenos animais (FIKE *et al.*, 1980; FIKE *et al.*, 1981; KAY *et al.*, 1986; LeCOUTEUR *et al.*, 1982; TURREL *et al.*, 1986; GEORGE & SMALLWOOD, 1992), não existem muitos dados publicados a respeito das alterações hepáticas difusas observadas por tomografia computadorizada em cães (VANSONNEMBERG *et al.*, 1983; SMALLWOOD *et al.*, 1993). Todavia, pode-se encontrar citações de algumas alterações focais do parênquima hepático, como neoplasias e hematomas (VANSONNEMBERG *et al.*, 1983; WOLFF *et al.*, 1988; LAMB, 1996). Já existem, também, relatos sobre algumas alterações hepáticas difusas induzidas experimentalmente em animais, como por exemplo a transformação gordurosa

induzida em coelhos (DUCOMMUN *et al.*, 1979). As correlações entre várias alterações difusas do fígado, como fibrose, cirrose e necrose com as imagens respectivas de tomografia computadorizada, embora conhecidas, ainda estão sendo melhor estudadas no homem pois vários relatos sobre as alterações observadas em diferentes doenças hepáticas estão constantemente sendo publicados trazendo sempre novos detalhes (TORRES *et al.*, 1986; ITAI *et al.*, 1988; RADIN, 1992).

Alguns trabalhos realizados com tomografia computadorizada do tecido hepático de seres humanos indicam que os valores de radiodensidade são menores quando há necrose, cirrose ou transformação gordurosa (CHIANG *et al.*, 1981; TORRES *et al.*, 1986; RADIN, 1992). Um estudo realizado em cadáveres de seres humanos indica que há diminuição significativa dos valores de radiodensidade obtidos no fígado com transformação gordurosa (BYDDER *et al.*, 1980). De acordo com DUCOMMUN *et al.* (1979), em um experimento utilizando coelhos, os valores obtidos no exame tomográfico do fígado com transformação gordurosa são menores que os valores obtidos no exame do fígado saudável. Do mesmo modo, FERREIRA *et al.* (1997b), observaram valores menores de radiodensidade no exame tomográfico do tecido hepático de um cão com transformação gordurosa do fígado. RADIN (1992), relatou que os valores de radiodensidade encontrados no exame tomográfico do tecido hepático de um paciente com necrose hepática induzida por cocaína foram mais baixos do que os normais. Segundo CHIANG *et al.* (1991), há diminuição dos valores de radiodensidade ao exame tomográfico de seres humanos apresentando necrose hepática.

Todavia, os modelos experimentais clássicos de insuficiência hepática, particularmente no cão, ainda não foram totalmente explorados pelo exame por tomografia computadorizada do abdômen (DUCOMMUN *et al.*, 1979; KUNIEDA *et al.*, 1984; LAMB, 1996).

#### 2.9.3.6 Estômago e Intestinos

Embora o método permita fácil identificação de todas as estruturas, a tomografia tem aplicação limitada, principalmente com relação a avaliação do trânsito gastrintestinal, além de ser desvantajosa na relação custo benefício,

comparativamente ao exame radiográfico contrastado em conjunto com a ultrasonografia (SMALLWOOD *et al.*, 1993a).

#### 2.9.3.7 Pâncreas

A tomografia computadorizada é o método de diagnóstico por imagem mais preciso para examinar o pâncreas, sendo extremamente útil no diagnóstico de pancreatites ou neoplasias pancreáticas (SMALLWOOD & GEORGE, 1993b).

#### 2.9.3.8 Baço

No exame do baço, a tomografia computadorizada não apresenta vantagens que justifiquem a substituição de bons exames radiográficos e ultrasonográficos (SMALLWOOD *et al.*, 1993b).

#### 2.9.3.9 Rins, Ureteres, Bexiga e Uretra

A tomografia não adiciona muitas informações quando comparada com o exame radiológico e/ou ultra-sonográfico na análise do sistema urinário (SMALLWOOD *et al.*, 1993b).

#### 2.9.3.10 Glândulas Adrenais

A tomografia computadorizada é o método de diagnóstico por imagem mais indicado no exame da adrenal tanto normal quanto alterada, principalmente por neoplasia (SMALLWOOD *et al.*, 1992b).

#### 2.9.3.11 Próstata

A tomografia computadorizada possui apenas algumas vantagens em relação ao exame radiológico e/ou ultra-sonográfico da próstata, principalmente na invasão capsular da glândula por neoplasia (SMALLWOOD *et al.*, 1993b).

#### 2.9.3.12 Ovários

O exame tomográfico é extremamente indicado na avaliação do grau de desenvolvimento de neoplasias ovarianas (SMALLWOOD *et al.*, 1993b).

### 2.9.3.13 Útero, Cérvix, Vagina e Testículos

Apesar da tomografia fornecer muitos detalhes sobre a anatomia do útero, cérvix, vagina e testículos, apresenta poucas vantagens sobre outros métodos de diagnóstico por imagem (SMALLWOOD *et al.*, 1993b).

## **3 Material & Métodos**

### ***3.1 Preparação dos animais***

Foram utilizados 14 cães, sendo seis machos e oito fêmeas, sem raça definida e de idades e portes físicos semelhantes, provenientes do Canil Municipal da Prefeitura de Curitiba, PR. Os cães foram escolhidos por tamanho, aparência e sanidade, de modo que apresentassem entre oito a 12 quilos, pêlos curtos e comportamento ativo. Antes de serem utilizados no experimento, os cães eram lavados, submetidos a exame físico e desverminados com ivermectina na dose de 200 µg/kg, por via intramuscular e permaneciam sob uma alimentação à base de ração industrializada balanceada por no mínimo uma semana no canil interno do Hospital Veterinário da UFPR. Após este período, os cães tinham seus abdômens depilados e eram submetidos a exame ultra-sonográfico do parênquima hepático. Adicionalmente, colhiam-se amostras de sangue da veia jugular para a realização de hemograma e dosagem das concentrações séricas de alanina aminotransferase e creatinina. Se qualquer alteração fosse encontrada em qualquer um destes exames o animal era imediatamente descartado. No experimento, foram descartados 5 animais.

### ***3.2 Desenho experimental***

Os 14 animais utilizados no experimento foram divididos em dois grupos: Grupo Controle, com três cães, e Grupo Experimental, com 11 cães. O experimento foi dividido em 5 tratamentos, T-0, T-1, T-2, T-3 e T-4, correspondendo, respectivamente, às zero, 24, 48, 96 e 192 horas.

Em T-0, todos os 14 animais foram anestesiados com propofol<sup>1</sup>, na dose de 9,0 mg/kg, por via intravenosa. Nesse momento colheu-se sangue da veia jugular, utilizando agulhas de calibre 21 G e tubos à vácuo sem anticoagulante, para dosagem dos níveis séricos de ALT. Imediatamente após, procedeu-se à colheita de uma amostra de tecido hepático através de biópsia percutânea cega e, a seguir, realizou-se tomografia computadorizada do segmento corporal compreendido entre a nona vértebra torácica e a terceira vértebra lombar. Após realizados esses exames, apenas os animais do Grupo Experimental receberam uma dose de 1,5 ml/kg de tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>), através de sonda oro-gástrica. Todos os procedimentos mencionados, excetuando-se a administração do CCl<sub>4</sub>, foram repetidos em T-1, T-2, T-3 e T-4, nos animais de ambos os grupos. No Grupo Experimental, a tomografia computadorizada foi realizada em apenas oito animais. Nestes animais, esse exame foi realizado em T-0 e repetido uma vez, para cada animal, em tempos diferentes. No Grupo Controle, a tomografia computadorizada foi realizada em todos os animais em T-0, em um animal em T1 e em dois animais em T-2. Todos os procedimentos realizados, o número de animais envolvidos e os tempos estão representados nas tabelas 2 e 3.

Diariamente, todos os cães eram observados quanto à alteração de comportamento e submetidos a exame físico. Sua alimentação durante todo transcorrer do experimento foi a mesma recebida durante o período experimental.

---

<sup>1</sup> Diprivan, Laboratórios Wellcome – ICI Ltda, Cotia-SP.

Após a realização do exame de tomografia computadorizada, da primeira colheita de sangue e da biópsia hepática, 11 dos 14 cães receberam 1,5 ml/kg de tetracloreto de carbono<sup>2</sup>, por meio de uma sonda oro-gástrica que media 0,6 cm de diâmetro e 42,0 cm de comprimento. Em três cães (grupo controle), não foram realizadas administrações de CCl<sub>4</sub> no tempo 0.

Posteriormente, foram realizadas anestésias, colheitas de sangue e biópsias às 24, 48, 96 e 192 horas da administração do CCl<sub>4</sub> em todos os 14 animais do experimento (Tabela 3). A tomografia computadorizada foi realizada em oito dos onze animais que seriam intoxicados e nos três animais do grupo controle, sendo repetida apenas mais uma vez após o tempo 0 (Tabelas 2 e 3).

Todos os cães foram examinados diariamente, sendo que eventuais alterações de comportamento ou do quadro clínico eram anotadas em um formulário padronizado. A alimentação dos animais durante todo o experimento foi a mesma do período pré-experimental.

**Tabela 2-** Número de animais submetidos a cada procedimento segundo a escala de tempo, para o Grupo Controle

Tempo (horas)	Procedimentos Realizados			
	Anestesia	Biópsia hepática	Colheita de sangue	Tomografia Computadorizada
0	3	3	3	3
24	3	3	3	1
48	3	3	3	2
96	3	3	3	-
192	3	3	3	-

<sup>2</sup> Tetracloreto de Carbono – Reagente Analítico, Reagen- Quimibrás Industrias Químicas Ltda., Rio de Janeiro-Brasil.

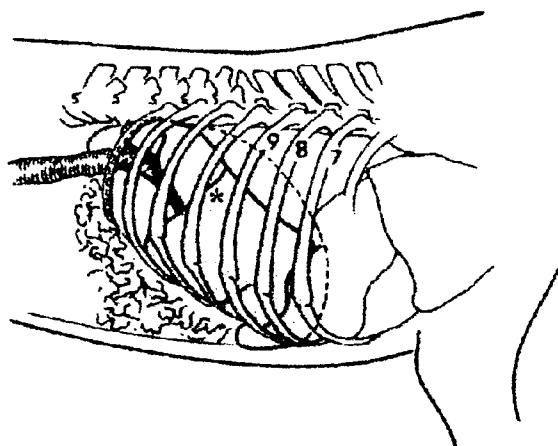
**Tabela 3-** Número de animais submetidos a cada procedimento segundo a escala de tempo, para o Grupo Experimental (animais que receberam o CCl<sub>4</sub>)

Tempo (horas)	Procedimentos Realizados				
	Anestesia	Biópsia hepática	Colheita de sangue	Tomografia Computadorizada	Administração de CCl <sub>4</sub>
0	11	11	11	8	11
24	11	11	11	2	-
48	11	11	11	2	-
96	11	11	11	2	-
192	11	11	11	2	-

### 3.2.1 Biópsias hepáticas

As amostras de parênquima hepático foram obtidas através de agulha especialmente desenvolvida para biópsias hepáticas, renais ou prostáticas do tipo Vin-Silverman modificada por Franklin<sup>3</sup>, de 2,0 mm de diâmetro e 90,0 mm de comprimento. Para realização da biópsia, com lâmina de bisturi n° 23 fazia-se uma incisão de pele de aproximadamente 1,0 cm, com uma lâmina de bisturi, na pele do nono espaço intercostal do lado direito, a meio caminho entre o esterno e a coluna vertebral (Figura 8) e, a seguir introduzia-se a agulha de biópsias em direção levemente dorsal, quase perpendicularmente ao plano mediano, procurando atingir o lobo lateral direito ou medial direito do fígado, sem o auxílio de aparelhos de diagnóstico por imagem (biópsia “cega”)

<sup>3</sup> Agulha para biópsias modelo TX – Automatic guillotine coaxial biopsy system, Gallini, Rome-Italy



**Figura 8-** Representação esquemática das estruturas anatômicas do tórax de um cão. O asterisco (\*) indica o ponto de inserção da agulha de biópsia para obtenção de amostras do parênquima hepático.

### 3.2.1 Preparação das lâminas e exame histopatológico

Todas amostras de fígado colhidas por meio de biópsia foram fixadas em formol a 10% e encaminhadas ao Serviço de Patologia do Hospital Erasto Gaertner em Curitiba, PR, para preparação dos cortes histológicos. As amostras foram submetidas a processamento histológico de rotina, incluídas em parafina e seccionadas a 5  $\mu\text{m}$  de espessura. Os cortes histológicos assim obtidos foram corados pela técnica de hematoxilina de Harris e eosina. Posteriormente, as lâminas eram enviadas ao Serviço de Patologia Animal da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba, PR para serem submetidas a avaliação histológica sob microscópica óptica e fotografadas, utilizando as objetivas de 10 e 40 vezes.

Na avaliação histológica, a lesão hepática foi classificada segundo o grau de necrose tecidual observado. As características histológicas das amostras de tecido hepático e o respectivo grau de necrose atribuído podem ser observados na Tabela 4.

**Tabela 4-** Características histológicas das amostras de tecido hepático e o respectivo grau de necrose atribuído para a avaliação do parênquima hepático na vigência da intoxicação experimental por CCl<sub>4</sub>, em cães.

Grau de Necrose	Características histológicas
0 (ausente)	Ausência de necrose
1 (leve)	Presença de necrose discreta, principalmente de hepatócitos isolados ou em pequenos grupos
2 (moderado)	Presença de necrose moderada, principalmente em grupos de hepatócitos localizados na região centro-lobular
3 (severo)	Presença de necrose severa na região centro-lobular
4 (muito severo)	Presença de necrose muito severa e ampla na região centro-lobular

### 3.2.2 Mensuração dos Níveis Séricos de Alanina Aminotransferase

Todas as amostras de sangue eram enviadas para análise bioquímica, ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFPR em Curitiba, PR, no máximo duas horas após a colheita. Os níveis séricos de alanina aminotransferase foram determinados em todas as amostras através de método colorimétrico, utilizando-se de um conjunto de reagentes disponível no comércio para diagnóstico "in vitro"<sup>4</sup>. O teste baseia-se no fato da ALT catalisar a transferência do grupamento amino de um alfa-aminoácido para um alfa-cetoácido, segundo a reação:



O piruvato formado reage com a dinitrofenilhidrazina, e a intensidade de coloração da hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de piruvato formado que, por sua vez, representa função da atividade enzimática da ALT.

<sup>4</sup> Conjunto para determinação de ALT (TGP) "in vitro", método colorimétrico de Reitman e Frankel, Quibasa, Química Básica Ltda., Belo Horizonte, Brasil.

### 3.2.3 Tomografia computadorizada do fígado

Os exames de tomografia computadorizada foram realizados no Centro de Tomografia Computadorizada (CETAC) S/C LTDA, em Curitiba-PR, utilizando-se de tomógrafo helicoidal de sexta geração<sup>5</sup>. Os cães eram posicionados em decúbito esternal e a técnica radiológica empregada foi de 120 kV e 266 mAs.

O brilho e o contraste das imagens foram ajustados com os controles variando entre 150 a 400 para “janela” e entre 15 a 50 para “centro”.

Optou-se pela realização de cortes tomográficos não sobrepostos de 5,5 mm a cada 2 segundos, entre a região da nona vértebra torácica e a região da terceira vértebra lombar, área em que localiza-se o fígado (Figura 9).

Os valores correspondentes a radiodensidade de três cortes distintos da imagem tomográfica do tecido hepático foram registrados pelo computador. Outros detalhes como tamanho e contornos do órgão também foram analisados.

No exame, procurou-se encontrar cortes tomográficos coincidentes ou muito próximos aos examinados antes e após a administração do CCl<sub>4</sub>. Os valores correspondentes a radiodensidade do tecido hepático registrados pelo computador foram comparados aos obtidos nos vários tempos. Os valores relativos a radiodensidade foram então anotados e analisados estatisticamente.

---

<sup>5</sup> Aparelho de tomografia computadorizada modelo CT-Twin II, fabricante Elscint Inc., Hackensack, NJ – U.S.A.



**Figura 9-** Foto demonstrando o aparelho de tomografia computadorizada utilizado no experimento (ELSCINT CT- Twin II) e posicionamento do animal anestesiado, durante o exame.

#### 3.2.4 Análise Estatística

Os dados referentes às variáveis ALT (Unidades por litro) e radiodensidade (Unidades Hounsfield) foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado, em que foram testados 5 tratamentos (Tabela 5).

**Tabela 5-** Tratamentos utilizados na análise estatística do experimento

Tratamento	Tempo (horas)
1	0
2	24
3	48
4	96
5	192

A homogeneidade das variâncias dos tratamentos foi testada pelo teste de Bartlett sendo os dados transformados por logaritmo dos valores originais, se assim indicado pelo resultado do teste.

As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 1% e 5% de probabilidade ( $p \leq 0,001$  e  $p \leq 0,005$ ). Adicionalmente, foi determinado o coeficiente de correlação entre as variáveis ALT e os resultados obtidos na análise histopatológica das amostras de tecido hepático colhidas por biópsia e no exame por tomografia computadorizada.

Todos os dados foram analisados através da utilização de programa estatístico para computador.<sup>6</sup>

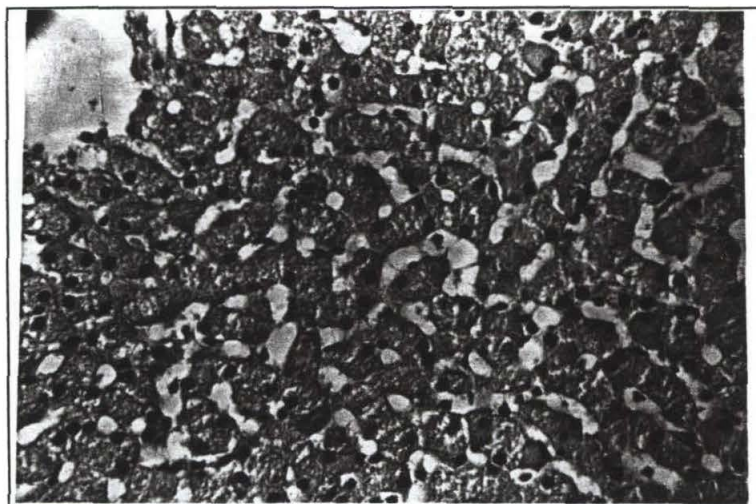
---

<sup>6</sup> MSTAT-C, versão 2.11, para computadores PC

## 4 Resultados

### 4.1 Histopatologia

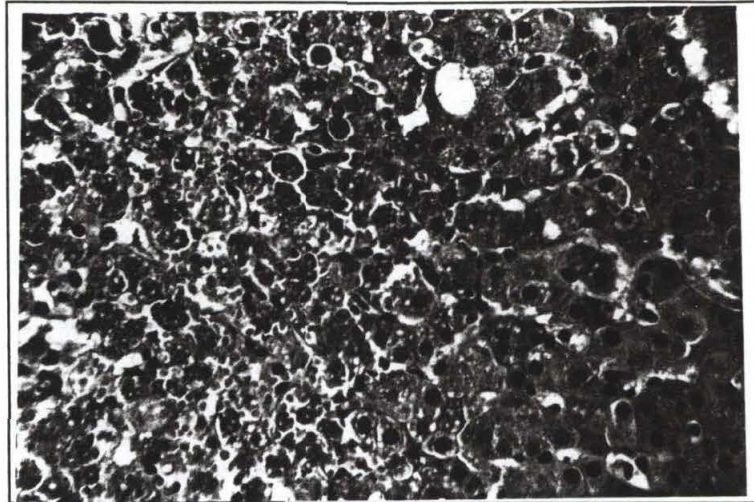
Na análise histopatológica das amostras de tecido hepático obtidas por meio de biópsia, observou-se que não haviam alterações em quaisquer das amostras colhidas antes das administrações de  $\text{CCl}_4$ . Todas as 11 amostras colhidas previamente a administração do  $\text{CCl}_4$ , bem como aquelas do grupo controle, não mostraram qualquer sinal presença de necrose (Figura 10), apenas uma discreta infiltração por neutrófilos em nove casos.



**Figura 10-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático, corada com hematoxilina e eosina, colhida antes da administração do  $\text{CCl}_4$ , demonstrando hepatócitos próximos a uma veia central, no canto superior esquerdo. Objetiva de 40 x.

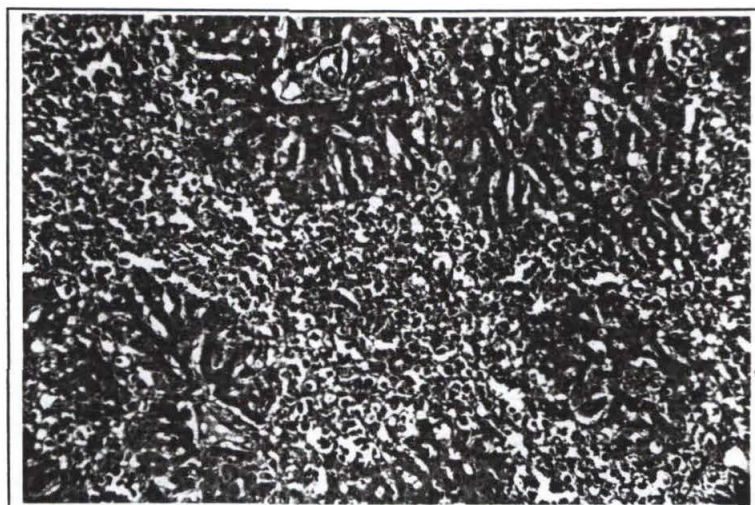
A análise histopatológica das amostras colhidas 24 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ , revelou presença de necrose moderada (em quatro amostras) e severa (em sete amostras). De modo geral, a necrose foi observada em hepatócitos isolados, ou em pequenos grupos, principalmente nas regiões próximas à veia central. Adicionalmente observou-se a presença de congestão de vasos sanguíneos e vacuolações intracitoplasmáticas de

provável natureza lipídica, sugerindo transformação gordurosa sutil, notada principalmente nos hepatócitos peri-portais (Figura 11).

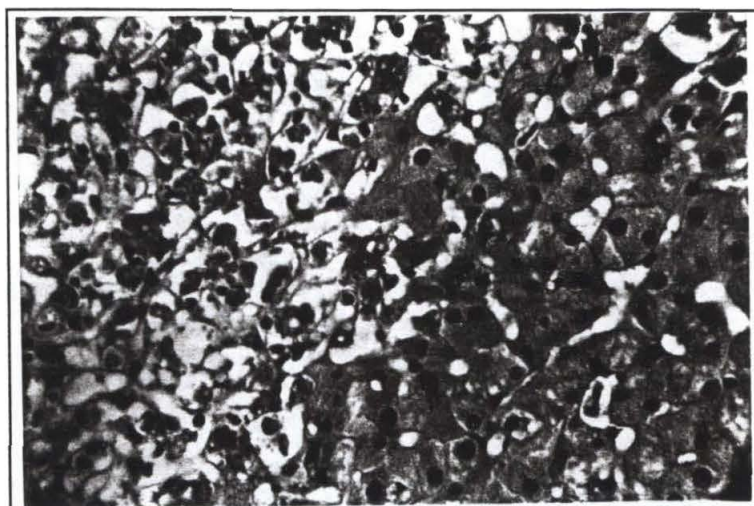


**Figura 11-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 24 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ , corada com hematoxilina e eosina, demonstrando hepatócitos próximos à veia central. Nota-se área de transição de tecido hepático de aspecto normal (à direita) para uma área em que grupos de hepatócitos mortos podem ser observados. Objetiva de 40x.

As amostras colhidas 48 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  apresentaram necrose centro-lobular de grau muito severo (em nove amostras) ou severo (em duas amostras). Observou-se também muitos restos celulares sobre o estroma centro-lobular remanescente, congestão de vasos sangüíneos e transformação gordurosa sutil nos hepatócitos peri-portais (Figura 12).

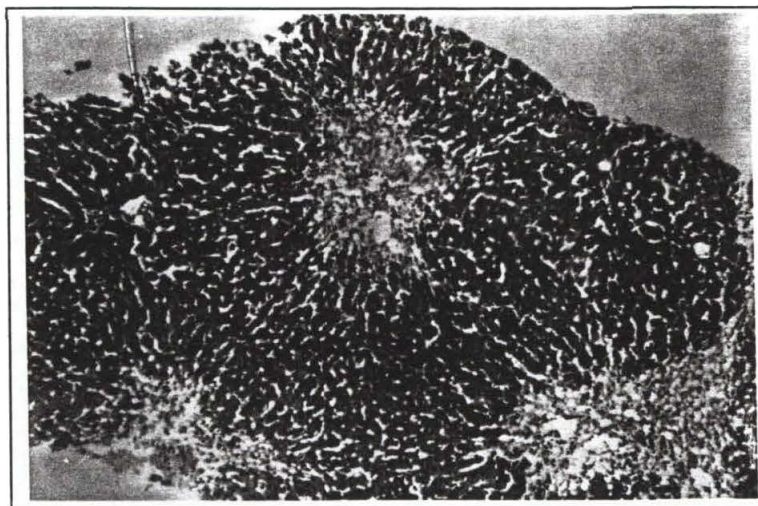


**Figura 12-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 48 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  demonstrando áreas de necrose centro-lobular severa e vários espaços-porta cercados por tecido hepático aparentemente normal. Objetiva de 10 x.

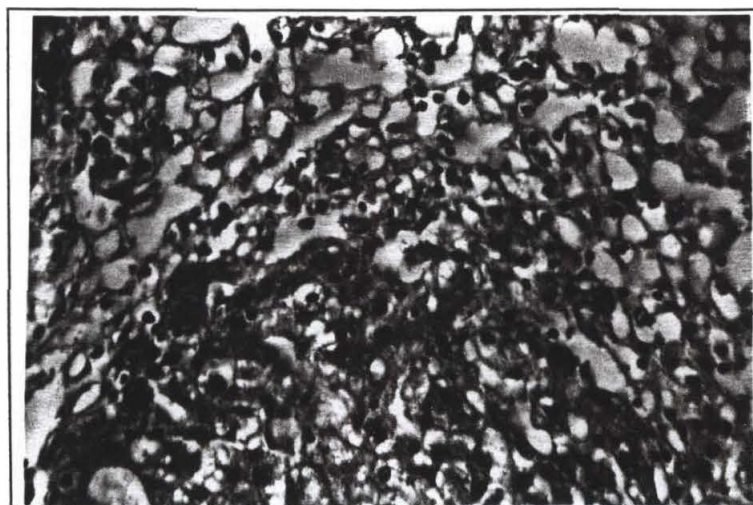


**Figura 13-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 48 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ , demonstrando hepatócitos próximos à veia central. Observa-se área de necrose centro-lobular severa, muitos restos celulares, estroma remanescente e algumas hemácias (à esquerda). Objetiva de 40 x.

Às 96 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  observou-se necrose centrolobular, porém com diminuição quantitativa dos restos celulares e permanência de estroma lobular na área centrolobular (Figura 14). Às vezes observam-se “pontes” discretas de tecido conjuntivo que conectavam diferentes espaços-porta. Notou-se também ausência de congestão de vasos e indícios de regeneração celular. As células novas, observadas invadindo a região centrolobular, apresentavam-se coradas de maneira distinta. O grau atribuído à necrose presente nestas amostras foi moderado na grande maioria dos casos (nove amostras) ou severo (em duas amostras somente). Os hepatócitos periportais ainda apresentavam transformação gordurosa sutil.

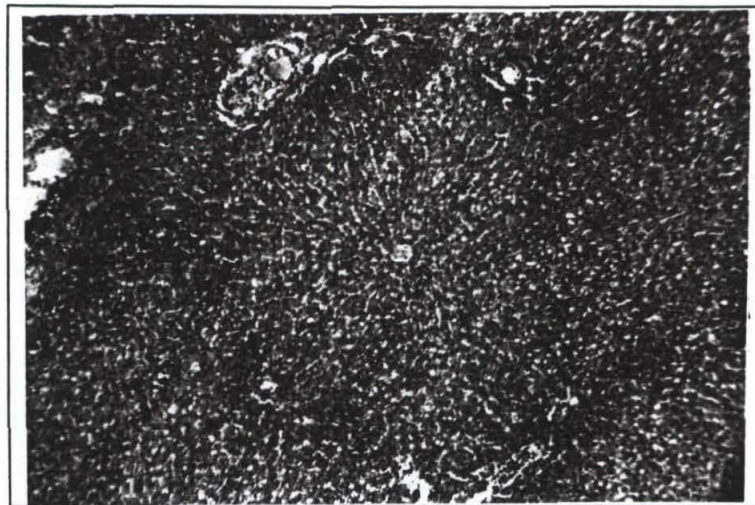


**Figura 14--** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 96 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ , demonstrando três regiões centrolobulares. Em algumas observam-se pequenas áreas semelhantes a uma grade de estroma no centro do lóbulo. Objetiva de 10 x

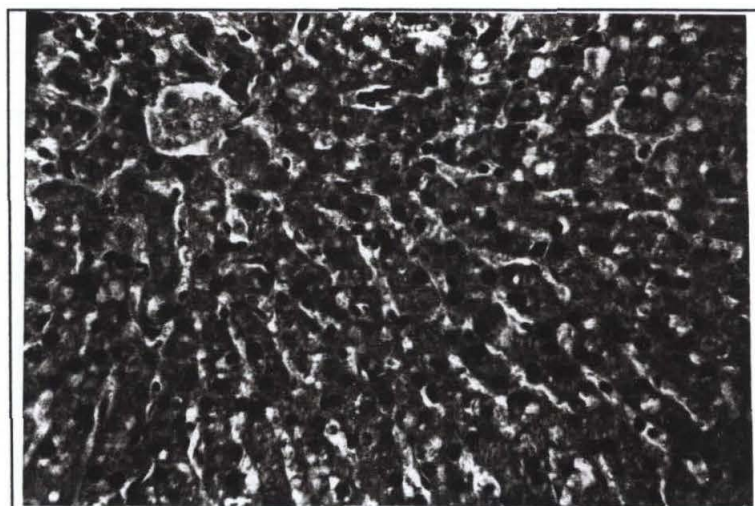


**Figura 15-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 96 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ , demonstrando área de transição entre o tecido hepático normal e a área de necrose centro-lobular. Observa-se menor quantidade de restos celulares e hemácias em relação a lesão observada 48 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ . Objetiva de 40 x.

A estrutura do lóbulo hepático das amostras analisadas 192 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  apresentava-se praticamente normal, tendo havido substituição completa das áreas de necrose na área centro-lobular por hepatócitos novos corados com uma tonalidade mais clara de que a normal (Figura 16). Das 11 amostras, 10 apresentavam apenas sinais muito sutis de necrose hepática, como a presença de restos celulares entre alguns hepatócitos. Atribuiu-se a estas amostras a classificação de necrose leve. Os hepatócitos peri-portais ainda apresentavam transformação gordurosa muito sutil. Ocasionalmente, observou-se ainda a presença de discretas “pontes” de tecido conjuntivo ligando alguns espaços-porta. Em uma das amostras, ainda foi encontrada necrose de hepatócitos isolados e, portanto, atribuiu-se à mesma grau de necrose moderado.



**Figura 16-** Fotomicrografia de uma amostra de tecido hepático obtida 192 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ . Observa-se completa regeneração das áreas necrosadas. Nota-se também padrão lobular evidenciado pela diferença de coloração das células novas, localizadas na região centro-lobular e que são mais claras em relação aos hepatócitos mais velhos, localizados nas regiões próximas aos espaços-porta. Objetiva de 10 x.



**Figura 17-** Fotomicrografia de amostra de tecido hepático colhida 192 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ , demonstrando hepatócitos próximos a uma veia central, (comparar com a figura 10). Objetiva de 40 x.

As amostras de tecido hepático dos animais pertencentes ao Grupo Controle em todos os tempos, antes ou após a realização das anestésias, não demonstraram qualquer sinal de necrose ou transformação gordurosa, sendo atribuído grau 0 (necrose ausente) na classificação das alterações histológicas, a todas as amostras.

Todos os resultados obtidos na análise histológica das amostras estão representados no Tabela 6:

**Tabela 6-** Graus de necrose centro-lobular encontradas nas amostras de tecido hepático nos diferentes períodos de tempo (0, 24, 48, 96 e 192 horas), em 11 cães intoxicados experimentalmente por CCl<sub>4</sub>

Grau de Necrose	Tempo (horas)									
	0		24		48		96		192	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
0	11	(100)	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	10	(90, 20)
2	-	-	3	(27,27)	-	-	9	(81,81)	1	(04, 09)
3	-	-	7	(73,63)	2	(18,18)	2	(18,18)	-	-
4	-	-	-	-	9	(81,81)	-	-	-	-

#### 4.2 Níveis Séricos de Alanina Aminotransferase (ALT)

Antes da administração do CCl<sub>4</sub>, a média dos níveis séricos de ALT permaneceu dentro da faixa de normalidade ( $30,835 \pm 14,83$  U/l). Entretanto, após a administração do CCl<sub>4</sub>, a média aumentou consideravelmente em 24 horas ( $17776, 291 \pm 842,36$  U/l) e atingiu valores máximos em 48 horas ( $5330,304 \pm 1396,67$  U/l). Estas três médias foram estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ). Posteriormente, em 96 horas e 192 horas após a administração do

CCl<sub>4</sub>, os níveis de ALT diminuíram (1977, 022 ± 555, 33 U/l e 404, 340 ± 159, 06 U/l, respectivamente) sendo que a média dos valores em 96 horas foi estatisticamente igual àquela obtida em 24 horas (Figura 18). As médias dos níveis de ALT em U/l antes (T-0) e nos diferentes períodos de tempo após a administração do CCl<sub>4</sub>, T-1, T-2, T-3 e T-4, são apresentadas na Tabela 10. A análise de variância do logaritmo das médias dos níveis séricos de ALT em T-0 e em T-1, T-2, T-3 e T-4 é apresentada na tabela 7.

**Tabela 7-** Análise de variância do logaritmo das médias dos níveis séricos de ALT antes e nos diferentes períodos de tempo após a administração do CCl<sub>4</sub> (24, 48, 96 e 192 horas) em cães

Fator de Variação	G.L.	SQ	QM	F
Tempo	4	34,4	8,6	232,0**
Erro Experimental	50	1,86	0,037	

Coeficiente de variação 6,79%

$\chi^2 = 7,45^{ns}$

G.L. - graus de liberdade

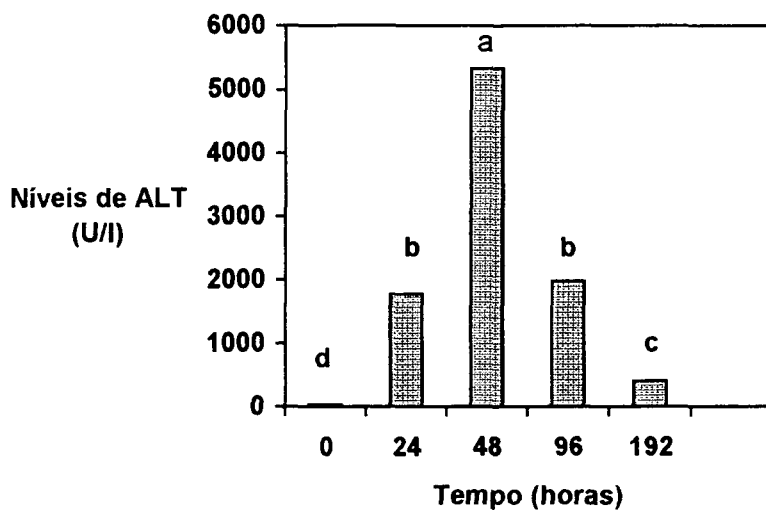
S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrados médios

F - valor de f

ns - não significativo

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade



**Figura 18-** Médias dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) antes da administração do  $\text{CCl}_4$  e após a administração do  $\text{CCl}_4$  (24, 48, 96 e 192h) em U/l. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p \leq 0,005$ )

Observou-se correlação positiva alta (0,86) e estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os níveis séricos de ALT (U/l) e os graus de severidade da necrose nas amostras de tecido hepático.

No Grupo Controle, não houve variação entre os níveis séricos de ALT antes (26,  $90 \pm 10$ , 70 u/l) e após (30,  $84 \pm 14$ , 83 U/l), permanecendo dentro dos valores considerados normais para a espécie.

### 4.3 Radiodensidade do parênquima hepático

Os valores das médias de radiodensidade do tecido hepático, em Unidades Hounsfield (UH), revelaram existir diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,01$ ) entre a média de radiodensidade obtida antes ( $81,31 \pm 6,98$  UH) e depois da administração do  $\text{CCl}_4$  ( $68,275 \pm 12,02$  UH), como pode ser observado na Figura 19. As médias dos valores de radiodensidade em UH antes (T-0) e nos diferentes períodos de tempo após a administração do  $\text{CCl}_4$ , T-1, T-2, T-3 e T-4, são apresentadas na Tabela 10. A análise de variância das médias dos níveis de radiodensidade do tecido hepático nos períodos antes e após a administração do  $\text{CCl}_4$  pode ser observada na Tabela 8.

**Tabela 8-** Análise de variância das médias dos níveis de radiodensidade do tecido hepático nos períodos antes e após a administração do  $\text{CCl}_4$

Fator de Variação	G.L.	SQ	QM	F
Tempo	1	787,067	787,067	8,94**
Erro Experimental	50	1,86	0,037	

Coefficiente de variação 12,38%

$$\chi^2 = 2,33^{\text{ns}}$$

G.L. - graus de liberdade

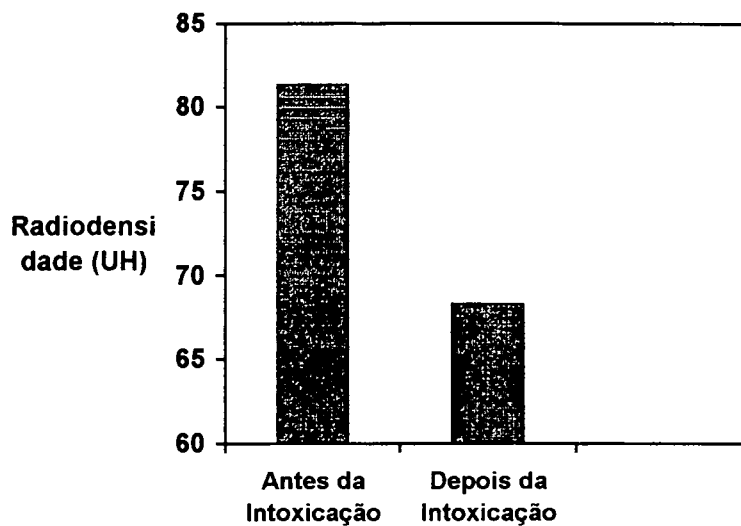
S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrados médios

F - valor de f

ns- não significativo

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade



**Figura 19-** Demonstração das médias de radiodensidade do tecido hepático obtidas por tomografia computadorizada, antes e depois da administração do  $\text{CCl}_4$ , em Unidades Hounsfield

Os resultados da análise de variância das médias dos valores de radiodensidade tecidual obtidos no experimento, quando considerados os diferentes períodos (T-0, T-1, T-2, T-3 e T-4), estão representados na Tabela 9. Tais resultados revelaram existir diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,01$ ) apenas entre a média obtida em 48 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  e as demais, como pode ser observado na Figura 20.

**Tabela 9-** Análise de variância das médias dos níveis de radiodensidade do tecido hepático nos diferentes períodos fixos antes e após a administração do CCl<sub>4</sub>, (0, 24, 48, 96 e 192 horas), em cães.

Fator de Variação	G.L.	SQ	QM	F
Tempo	4	1538,423	384,606	7,219**
Erro Experimental	14	745,879	53,277	

Coefficiente de variação 12,38%

$$\chi^2 = 9,63^{ns}$$

G.L. - graus de liberdade

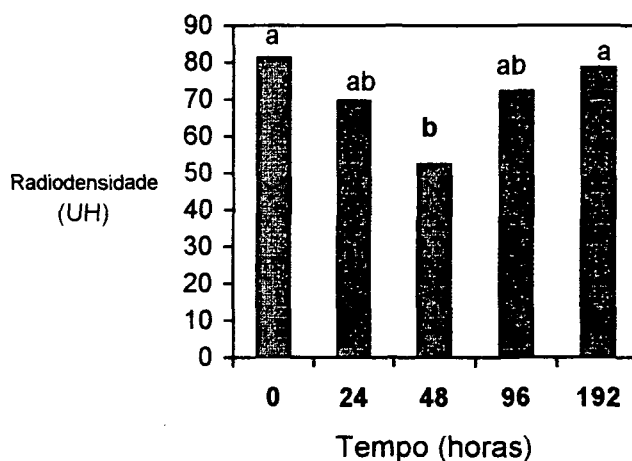
S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrados médios

F - valor de f

ns- não significativo

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade



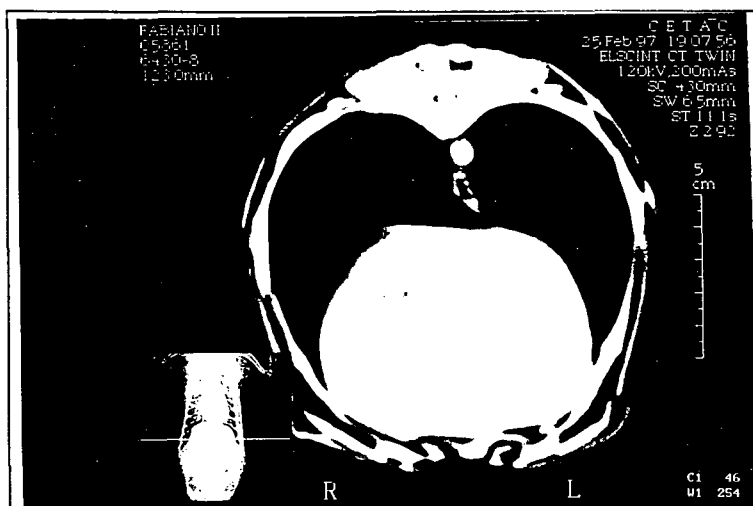
**Figura 20-** Demonstração das médias de radiodensidade do tecido hepático (capacidade tecidual de atenuação dos feixes de raios-X) em Unidades Hounsfield, obtidas por tomografia computadorizada nos períodos antes e após a administração do CCl<sub>4</sub> (0, 24, 48, 96 e 192 h). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

**Tabela 10-** Valores de radiodensidade em UH e níveis de ALT em U/l antes (T-0) e nos diferentes períodos de tempo após a administração do CCl<sub>4</sub>, T-1, T-2, T-3 e T-4, em cães

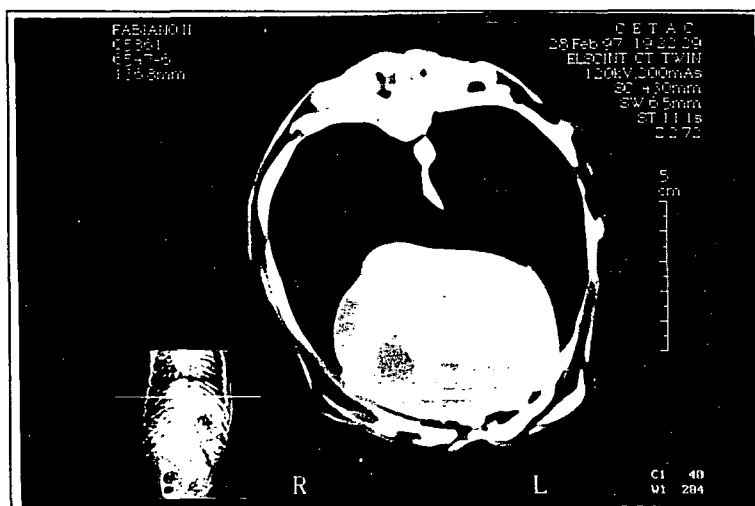
<b>Tratamento</b>	<b>ALT U/l</b>	<b>Radiodensidade UH</b>
T-0	30,835	81,311
T-1	1776,291	69,695
T-2	5330,304	52,460
T-3	1977,022	72,315
T-4	404,339	78,630

Os valores das médias de radiodensidade do tecido hepático dos animais do grupo controle após uma ou duas anestésias com propofol foram de  $80,96 \pm 4,22$  UH, não havendo diferença significativa dos valores de radiodensidade do tecido hepático obtidos nos cães antes da realização das anestésias, que foi de  $81,31 \pm 6,98$  UH.

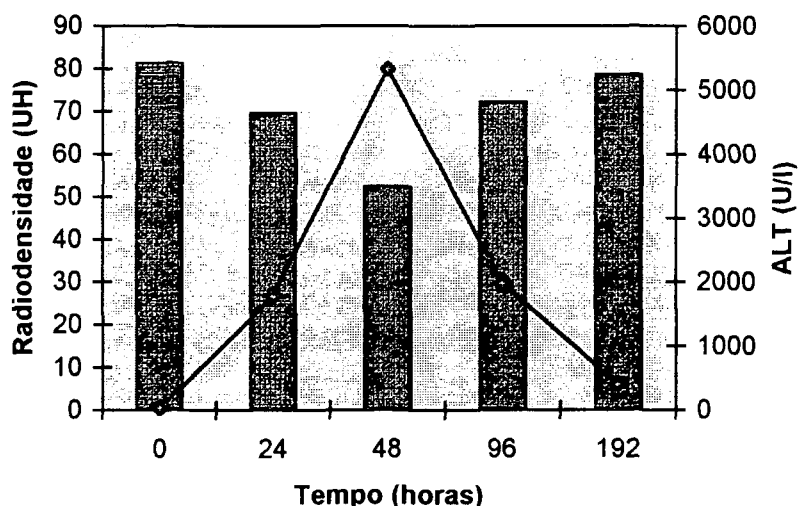
Verificou-se correlação negativa (0,62) e estatisticamente significativa ( $p \leq 0,005$ ) entre os níveis séricos de ALT (U/l) e os valores correspondentes a radiodensidade (UH) obtidos no exame do tecido hepático. As médias dos valores obtidos da concentração sérica de ALT e de radiodensidade hepática estão representadas na Figura 23.



**Figura 21-** Tomografia computadorizada, secção na décima primeira vértebra, demonstrando contornos e dimensões hepáticas normais. A marcação AV demonstra a radiodensidade da área envolvida pelo cursor em forma de círculo (71,4 UH) em cão, antes da administração do  $\text{CCl}_4$ .



**Figura 22 -** Tomografia computadorizada, secção na décima primeira vértebra, obtida 48 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  em cão. Observa-se que os contornos e dimensões hepáticas não variam após a administração do  $\text{CCl}_4$ . A marcação AV demonstra a radiodensidade da área envolvida pelo cursor em forma de círculo (50,8 UH). A área cujo valor da radiodensidade foi demonstrado na foto corresponde, aproximadamente, a mesma área cujo valor foi demonstrado na Figura 21.



**Figura 23-** Representação das médias de radiodensidade do tecido hepático em Unidades Hounsfield (UH), obtidas por tomografia computadorizada nos períodos antes e após a administração do  $\text{CCl}_4$  (0, 24, 48, 96 e 192 h) comparada com as médias das concentrações séricas de ALT em Unidades por litro (U/l) em cães intoxicados experimentalmente por  $\text{CCl}_4$ .

#### 4.4 Quadro Clínico

Os sinais clínicos observados nos animais intoxicados pelo  $\text{CCl}_4$  foram dor à palpação abdominal, apatia (depressão), anorexia, e diarreia com ou sem estrias de sangue. Em nove dos 11 animais do Grupo Experimental foi possível observar dor à palpação abdominal na região do hipocôndrio direito a partir das 24 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$ . Na maioria dos animais, a dor desaparecia em torno de 96 horas após. Apatia foi observada em oito animais, 24 horas após a administração do  $\text{CCl}_4$  e prolongou-se até aproximadamente 60 horas. Anorexia, observada já a partir da recuperação anestésica, ocorreu em cinco animais e perdurou até 48 horas da administração do  $\text{CCl}_4$ . Diarreia foi observada em seis animais, sendo que quatro destes apresentaram estrias de sangue nas fezes. Não foram observados quaisquer destes sinais clínicos nos animais pertencentes ao grupo controle.

## 5 Discussão

De modo geral, as alterações histológicas, bioquímicas e tomográficas observadas durante a intoxicação com tetracloreto de carbono, foram bastante uniformes. A lesão hepática causada pelo CCl<sub>4</sub>, uma necrose centro-lobular com sutil transformação gordurosa, apresentou boa reversibilidade, como já observado anteriormente por AGUILERA-TEJERO *et al.* (1988) e TERBLANCHE *et al.* (1991). As constatações obtidas no presente trabalho fazem-nos concordar com AGUILERA-TEJERO *et al.* (1988) de que, nos cães, a uniformidade das lesões hepáticas obtidas com a intoxicação por CCl<sub>4</sub> parece ser muito boa.

A técnica de biópsia cega, utilizando a abordagem percutânea transtorácica mostrou-se segura e adequada ao estudo histopatológico de amostras de tecido hepático. Não foram observadas complicações durante a realização das biópsias e a grande maioria das amostras obtidas foram adequadas ao exame histopatológico. Esses fatos são corroborados pelos achados de BROBST *et al.* (1972); VAN VLEET *et al.* (1968); HITT *et al.* (1992); KERWIN (1995); ROTH *et al.* (1995). Vale lembrar que OSBORNE *et al.* (1974) afirmou que a biópsia hepática percutânea é um procedimento simples, seguro e de extremo valor para o diagnóstico das hepatopatias em pequenos animais.

Ao exame histopatológico, observou-se discreta infiltração de neutrófilos no tecido hepático de nove animais no tempo 0, ou seja, previamente à administração de CCl<sub>4</sub>. Segundo os autores ROTH *et al.* (1995) e MEYER (1996), a presença de infiltração neutrofílica é um achado normal em se tratando de biópsia percutânea de animais sadios anestesiados, principalmente quando se colhem porções marginais do fígado.

A observação de necrose centro-lobular (zona 3), discreta transformação gordurosa e leve congestão dos vasos sanguíneos do fígado, principalmente às 24 e 48 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>, foram semelhantes àquelas

encontradas por outros autores (VAN VLEET *et al.*, 1968; AGUILERA-TEJERO *et al.*, 1988; CENTER, 1996c).

Os primeiros sinais de regeneração hepática foram observados 96 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>. Em 192 horas, a arquitetura do parênquima hepático estava recomposta. Estes achados sugerem que a afirmação de CENTER (1996c) que o fígado leva algumas semanas para regenerar-se após apresentar necrose centro-lobular severa, subestima a capacidade do órgão. Neste experimento, a regeneração se deu de maneira bastante rápida, a tal ponto que poderíamos afirmar que a regeneração completa do fígado se dá em pouco mais de uma semana da administração do CCl<sub>4</sub>. Tal fato é corroborado pelas observações de KELLY (1993), que afirma que regeneração hepática pode ser mais rápida nas lesões causadas por agentes tóxicos. Segundo ele, tal fato ocorre devido a permanência de um "arcabouço" composta pelo estroma do lóbulo e por citoesqueletos deixados no tecido necrosado, após o contato com o agente tóxico. Por este "arcabouço" novos hepatócitos poderiam, supostamente, orientar-se mais facilmente.

Na análise histológica, constatou-se a presença de remanescentes do estroma no centro do lóbulo hepático, principalmente em 48 e 96 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>, formando o suposto "arcabouço" que KELLY (1993) se referiu. Do mesmo modo, como já descrito por STROMBECK & GUILFORD (1991a) e CENTER (1996b), após a regeneração hepática, observou-se demarcação dos lóbulos ao exame histológico do fígado dos cães intoxicados no experimento.

Na análise da bioquímica sérica dos cães utilizados no experimento, observou-se pronunciado aumento dos níveis circulantes de alanina aminotransferase (ALT), principalmente em 48 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>, atingindo uma média de 5330,304 U/l semelhante à obtida por NOONAN (1981), que foi de 6550, 286 U/l utilizando o mesmo protocolo empregado aqui. O gráfico obtido pela variação das médias de ALT, nos resultados do presente estudo, foi muito semelhante aos obtidos por ANWER *et al.* (1976); NOONAN (1981) e por CENTER (1996c).

Como já observado por CORNELIUS (1985a); MEYER *et al.* (1992). CENTER (1996a) e CENTER (1996c), verificou-se uma correlação positiva e

estatisticamente significativa entre os níveis séricos de ALT e os graus de severidade da necrose hepática, ou seja, quanto maior o nível sérico de ALT maior o grau de necrose hepática. Entretanto, cabe aqui salientar que a necrose hepática não pode ser diagnosticada exclusivamente através de testes de bioquímica sérica uma vez que os níveis séricos desta enzima podem estar aumentados por outros motivos (CENTER, 1996c).

Com base nos resultados obtidos com o emprego do agente anestésico propofol em todos os animais do experimento, observou-se que o tempo de anestesia geral profunda, proporcionado pela utilização do propofol, foi suficiente para a realização das biópsias hepáticas, colheitas de sangue e exames de tomografia computadorizada. Os animais do grupo controle apresentaram os valores de ALT dentro da faixa de normalidade após consecutivas anestésias com propofol. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por LINDGREN (1994); ROBINSON *et al.* (1995); GREENE (1996); BOTELHO *et al.*, (1996) e FERREIRA *et al.*, (1997a), que pontificam que não há evidências de que o propofol afete adversamente a função hepática. Curiosamente, não houve diferença significativa quanto ao tempo de despertar da anestesia geral, antes e depois da administração do CCl<sub>4</sub>. Os resultados obtidos sugerem que realmente existem sítios extrahepáticos para a metabolização do propofol, como sugerem GREENE (1996) e FERREIRA *et al.* (1997a).

Pode-se considerar que foi muito pequeno o número de animais do Grupo Controle para avaliação de eventuais alterações bioquímicas e histológicas induzidas pela anestesia com propofol. Contudo, muitos trabalhos já foram realizados comprovando que o propofol não provoca lesões hepáticas ou liberação de transaminases na circulação (LINDGREN, 1994; ROBINSON, *et al.*, 1995; GREENE, 1996; BOTELHO *et al.*, 1996 e FERREIRA *et al.*, 1997). Por outro lado, no que tange aos valores para a radiodensidade hepática, as alterações histológicas e os níveis de ALT, o número empregado de animais foi suficiente para que os valores obtidos sejam realmente significativos. Uma vez que os valores foram obtidos antes e após a administração do CCl<sub>4</sub>, cada animal do Grupo Experimental foi controle de si próprio, fazendo com que qualquer alteração observada fosse, seguramente, causado pelo tratamento.

SMALWOOD *et al.* (1993) recomendam que a apresentação normal de cada tecido no exame de tomografia computadorizada e as alterações espécie-específicas nos processos patológicos devem ser conhecidas antes que este método de diagnóstico por imagem seja considerado eficiente na medicina veterinária. Devido a completa ausência de publicações a respeito do assunto, LAMB (1996) afirma que há grande necessidade de se explorar e conhecer melhor as alterações observadas no exame tomográfico nas diferentes hepatopatias de pequenos animais. Isto posto, cabe ressaltar que a média obtida no experimento de  $81,31 \pm 6,98$  Unidades Hounsfield para a radiodensidade do tecido hepático normal de 14 cães saudáveis é o primeiro relato deste tipo na literatura veterinária. Da mesma maneira, é o primeiro relato das alterações observadas no exame de tomografia computadorizada do tecido hepático apresentando necrose, induzida por um protocolo experimental consagrado, acompanhado por provas histológicas e bioquímicas.

Houve diminuição, estatisticamente significativa dos valores de radiodensidade do tecido hepático, após a administração do  $\text{CCl}_4$ . Os valores de radiodensidade diminuem devido a necrose e a transformação gordurosa ocasionadas pela intoxicação por  $\text{CCl}_4$ . Tal observação é corroborada pelos achados de RADIN (1992) no tecido hepático necrosado de pessoas intoxicadas com cocaína. Do mesmo modo, a diminuição dos valores de radiodensidade do tecido hepático apresentando transformação gordurosa já havia sido observada por DUCOMMUN *et al.* (1979) em coelhos intoxicados por  $\text{CCl}_4$  e por KUNIEDA *et al.* (1984) em seres humanos.

Adicionalmente, considerando-se cada um dos intervalos de tempo pré-definidos, observou-se diminuição estatisticamente significativa da média da radiodensidade do tecido hepático apenas após 48 horas da administração do  $\text{CCl}_4$ , que foi de  $52,46 \pm 9,0$  UH. Subseqüentemente, a média dos valores de radiodensidade voltou a subir até que, em 192 horas (T-4) após a administração do  $\text{CCl}_4$ , tornou-se estatisticamente igual àquela obtida em T-0. Esta recuperação dos valores de radiodensidade, em 96 e 192 horas da administração, pode ser perfeitamente explicada pela diminuição dos níveis de ALT no soro e pelas evidências histológicas de regeneração hepática. As constatações obtidas no presente trabalho fazem-nos concordar com

DUCOMMUN *et al.* (1979) que afirmam que o emprego da tomografia computadorizada é extremamente útil em casos de alterações difusas do parênquima hepático como cirrose, transformação gordurosa ou necrose generalizada, pois obtém-se valores numéricos relativos à densidade do fígado.

Com relação a todos os testes realizados em 192 horas após a administração do CCl<sub>4</sub> (T-4), apenas os valores obtidos para a radiodensidade do tecido hepático podem ser considerados como dentro da faixa de normalidade. Todavia, devido as evidências histológicas de que o fígado ainda não apresentava-se totalmente regenerado em 192 horas da administração do CCl<sub>4</sub>, e como o número de repetições para obtenção dos dados de radiodensidade nos tempos fixos após a administração do CCl<sub>4</sub> foi baixo, este resultado deve ser considerado com certa cautela do ponto de vista estatístico. A realização de exames adicionais de tomografia computadorizada, em cada um dos tempos determinados, após a administração do CCl<sub>4</sub> seria indicada o que não foi possível devido ao custo elevado dos procedimentos.

Neste experimento, as alterações observadas na análise da bioquímica sérica e no exame de tomografia computadorizada foram compatíveis com as alterações histológicas observadas no tecido hepático. Quando o fígado apresentava necrose centro-lobular e transformação gordurosa mais intensa, ou seja, em 48 horas da administração do CCl<sub>4</sub>, os níveis séricos de ALT atingiam os níveis mais altos e os valores de radiodensidade atingiam seus valores mais baixos. Portanto, pode-se afirmar que quando um conjunto de testes como este é utilizado na tentativa de se obter informações relativas à função hepática em qualquer paciente, há uma grande chance de se obter uma resposta menos vaga que "insuficiência hepática" como diagnóstico.

Os sinais clínicos observados em decorrência da administração do CCl<sub>4</sub> foram muito semelhantes aos encontrados em outras doenças do aparelho digestório, sendo portanto inespecíficos. Tal fato já havia sido observado por CENTER (1996c). De acordo com o mencionado por ROGERS (1986) e JOHNSON (1995); é realmente difícil discernir quais são os sinais clínicos causados primariamente pela ação direta do CCl<sub>4</sub> na mucosa gástrica e/ou entérica daqueles causados secundariamente em decorrência da insuficiência aguda do fígado.

O protocolo empregado no presente estudo para o modelo de necrose hepática aguda em cães, utilizando o CCl<sub>4</sub>, satisfaz os parâmetros estabelecidos no Primeiro Encontro Internacional de Hepatologia, realizado na Itália em 1989, que caracterizam um modelo animal satisfatório de insuficiência hepática aguda propício para a medicina comparativa. As recomendações propostas no encontro foram que o protocolo empregado não cause a morte do animal (seja potencialmente reversível), que a lesão hepática seja uniforme, que exista a possibilidade de recuperação/tratamento do animal, que se utilizem animais maiores do que ratos ou camundongos e, por último, que exista baixa possibilidade do material empregado no protocolo experimental causar danos ao pessoal envolvido no trabalho (TERBLANCHE *et al.*, 1991).

De modo geral, tanto o protocolo empregado no experimento como a importância dos resultados obtidos são corroborados por BOTTING *et al.* (1997) que afirma que, embora já existam inúmeros modelos experimentais que empregam cultivos celulares de muitos tecidos, a utilização de modelos que empregam animais ainda é infinitamente superior em termos de aplicabilidade dos dados obtidos e, sem dúvida, de importância vital para a evolução da ciência médica.

## 6 Conclusões

Dentro do que foi proposto nos objetivos do trabalho e com base nos resultados obtidos no experimento, pode-se concluir que:

- Uma única administração intra-gástrica de 1,5 ml/kg de CCl<sub>4</sub> provoca necrose centro-lobular severa e transformação gordurosa do fígado de cães em 24 horas, sendo que a severidade das lesões é máxima em torno de 48 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>;
- Os primeiros sinais de regeneração hepática em cães já são observados em 96 horas após a administração do CCl<sub>4</sub> e a arquitetura hepática reconstitui-se a níveis muito próximos ao normal em torno de 192 horas após a administração do CCl<sub>4</sub>;
- Os níveis séricos da enzima alanina aminotransferase (ALT) elevam-se pronunciadamente nos cães após a administração do CCl<sub>4</sub>, atingindo pico máximo de concentração sérica em 48 horas. Níveis séricos mais baixos de ALT já são observados após 96 e 192 horas, no entanto, ainda mais altos do que os encontrados em animais normais;
- Existe correlação positiva entre o grau de severidade da necrose hepática observado no exame histológico e os níveis de ALT detectados no soro após a administração do CCl<sub>4</sub>;
- A radiodensidade normal do tecido hepático de cães no exame de tomografia computadorizada é de aproximadamente 81,31 UH;
- Os valores de radiodensidade são menores no tecido hepático de cães apresentando necrose centro-lobular severa e transformação gordurosa sutil causados pela administração do CCl<sub>4</sub>;

- Existe correlação negativa entre os níveis séricos de ALT e a radiodensidade do tecido hepático após a administração do CCl<sub>4</sub>;
- No exame de tomografia computadorizada, os contornos e dimensões do fígado dos cães não variam após uma única administração de 1,5 ml/kg de CCl<sub>4</sub>;

Embora todas as considerações referentes ao efeito anestésico do propofol, à técnica de biópsia hepática cega e aos sinais clínicos decorrentes da administração de CCl<sub>4</sub> não fizessem parte dos objetivos inicialmente propostos no trabalho, pôde-se concluir, adicionalmente, que:

- A qualidade da anestesia geral produzida pelo agente anestésico propofol, como também a duração da mesma, foram adequadas para a realização de biópsias hepáticas, colheitas de sangue e exames de tomografia computadorizada em cães;
- A chamada biópsia percutânea cega, empregando o acesso transtorácico, é uma técnica eficiente e segura na obtenção de amostras de tecido hepático, mesmo quando realizada repetidas vezes e em curtos intervalos de tempo no mesmo cão;
- O quadro clínico exibido pelos animais intoxicados por uma dose única de 1,5 ml/kg de CCl<sub>4</sub> é inespecífico e manifesta-se por dor à palpação abdominal, apatia (depressão), anorexia, e diarreia com ou sem estrias de sangue.

## 7 Referências Bibliográficas

1. AGUILERA-TEJERO, E. *et al.* Plasma bile acids, lactate dehydrogenase and sulphobromophthalein retention test in canine carbon tetrachloride intoxication. **Journal of Small Animal Practice**, London-UK, v. 29, n. 11, p. 711-717, 1988.
2. ALZUGARAY, D. (Ed.). 1000 que fizeram o século 20. **Edição Especial Istoé e The Times**. São Paulo: Editora Três, 1995.
3. ANWER, M.S. *et al.* Plasma bile acid elevation following CCl<sub>4</sub> induced liver damage in dogs, sheep, calves and ponies. **Research In Veterinary Science**, London-England, v. 20, p.127-130, 1976.
4. BILLER, D. S. *et al.* Ultrasonography of diffuse liver disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Berlin-Germany, v. 6, n. 2, 1992.
5. BLUEMKE D. A. *et al.* Helical (spiral) CT of the liver. **Radiologic Clinics of North America**, Philadelphia - PA, v. 33, n. 5, p. 863-886, Sept. 1995.
6. BOOTHE, H. W. *et al.* Use of hepatobiliary scintigraphy in the diagnosis of extrahepatic biliary obstruction in dogs and cats: 25 cases (1982-1989). **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 201, n. 1, p. 134-141, July 1992.
7. BOTELHO, R. P. *et al.* Propofol: avaliação clínica e laboratorial em cães. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, Rio de Janeiro-RJ, v.3, n.3, p.81-87, Sept/Dez 1996.
8. BOTTING, J. H.; MORRISON, A. R. Animal research is vital to medicine. **Scientific American**, New York-NY, v. 276, n. 2, p. 67-69, Feb. 1997.
9. BRINK, J. A. Technical aspects of helical spiral CT. **Radiologic Clinics of North America**, Philadelphia - PA, v. 33, n. 5, p. 825-841, Sept. 1995.
10. BROBST, D. F. *et al.* Needle biopsy of the canine liver and correlation of laboratory data with histopathologic observations. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 161, n.4, p. 382-391, Aug. 1972.
11. BUNCH, S. E. Hepatotoxicity associated with pharmacologic agents in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia - PA, v. 23, n. 3, May 1993.
12. BURK, R.L. Computed tomographic anatomy of nasal disease in 100 dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Schaumburg-IL, v. 33, n.3, p. 177-180, 1992.

13. BYDDER, G.M. *et al.* Accuracy of computed tomography in diagnosis of fatty liver. **British Medical Journal**, London, UK, v. 281, n. 18, Oct. 1980.
14. CARLISLE, C. H. *et al.* Anatomy of the portal and hepatic veins of the dog: a basis for systematic evaluation of the liver by ultrasonography. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Schaumburg- IL, v. 36, n. 3, p. 227-233, 1995.
15. CENTER, S. A. *et al.* Liver: normal structure and function. In: GUILFORD, W. G. *et al.* **Strombeck's Small Animal Gastroenterology**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1996, p. 540-552.
16. CENTER, S. A a. Chronic disease in the dog: important concepts and management considerations. In: Waltham Symposium on Liver Disease (Birmingham, UK). **Proceedings...** Leicestershire, UK: WALTHAM, Centre for Pet Nutrition, Melton Mowbray, 1996. p. 20-41.
17. CENTER, S. A b. Pathophysiology of liver disease: normal and abnormal function. In: GUILFORD, W. G. *et al.* **Strombeck's Small Animal Gastroenterology**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1996, p. 553 - 632.
18. CENTER, S. A c. Acute hepatic injury: hepatic necrosis and fulminant hepatic failure. In: GUILFORD, W. G. *et al.* **Strombeck's Small Animal Gastroenterology**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1996, p. 654-704.
19. CHIANG, K. S. *et al.* Massive hepatic necrosis in the hellp syndrome: ct correlation. **Journal of Computer Assisted Tomography**, New York-NY, v. 15, n.5, p. 845-847, 1981.
20. CORNELIUS, L. M a. Laboratory evaluation of liver disease in small animals-part I. **Modern Veterinary Practice**, Santa Barbara-CA, v. 66, n. 7, p.461-465, July 1985.
21. CORNELIUS, L. M b. Laboratory evaluation of liver disease in small animals-part I. **Modern Veterinary Practice**, Santa Barbara-CA, v. 66, n. 8, p.535-538, Aug. 1985.
22. CRASS, J.R. *et al.* Magnetic resonance, ultrasound and histopathologic correlation of acute and healing equine tendon injuries. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, Schaumburg- IL , v. 33, p. 206-216, 1992.
23. DENNIS, R. Magnetic resonance imaging and its application to veterinary medicine. Separata de: **Veterinary International**, The Animal Health Trust, PO Box 5, Newmarket, Suffolk, UK, p.3-10, [1993?].
24. DIMSKI, D. S. Acute hepatic failure. In: TILLEY, Larry P.& SMITH,

Francis W.K. **The 5 Minute Veterinary Consult- Canine and Feline**. Baltimore-MA: Williams & Wilkins, 1997. p. 652-653.

25. DUCOMMUN J.C. *et al.* The relation of liver fat to computed tomography numbers: a preliminary experimental study in rabbits. **Radiology**, Oak Brook-IL, v. 130, n. 2, p. 511-513, Feb. 1979.
26. EDWARDS, D. F. Blind percutaneous liver biopsy: a safe diagnostic procedure. **California Veterinarian**, Davis-CA, v. 31, n. 4, p. 9-17, Apr. 1977.
27. EVANS, H. The digestive apparatus and abdomen. In: \_\_\_\_\_ **Miller's Anatomy of The Dog**. 3. ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Company, 1993, p. 385- 462.
28. FEENEY, D. A. *et al.* Veterinary computed tomography. In: KIRK, Robert W. & BONAGURA, John D. **Kirk's Current Veterinary Therapy XI Small Animal Practice**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1992, p. 10-18.
29. FELDMAN, E. C. *et al.* Percutaneous transthoracic liver biopsy in the dog. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 169, n. 8, p.805-810, Oct. 1987.
30. FERREIRA, F. M. *et al.* a. Indução anestésica com propofol em cães com insuficiência hepática aguda. In: III Encontro de Anestesiologia Veterinária. **Anais...** Araçatuba-SP, 1997, p. 2.
31. FERREIRA, F. M. *et al.* b. Alterações tomográficas no fígado de um cão com transformação gordurosa hepática- relato de caso. In: XIX Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais. **Anais...** Curitiba-PR, 1997, p. 46.
32. FERREIRA, F. M. *et al.* A tomografia computadorizada em medicina veterinária de pequenos animais. Uma breve descrição do método e das aplicações clínicas. **Clínica Veterinária**, São Paulo- SP, Ano III, n. 12, jan./fev., 1998.
33. FIKE, J.R. *et al.* Computerized tomography of brain tumors of the rostral and middle fossa in the dog. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg- IL, v. 42, p. 275-281, 1981.
34. FIKE, J. R. *et al.* Canine anatomy as assessed by computerized tomography. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg-IL, v. 41, n. 11, p. 1823-1832, Nov. 1980.
35. FOLEY, D. *et al.* Computed tomography - Focal and diffuse liver disease. **Radiologic Clinics of North America**, Philadelphia - PA, v. 29, n. 6, p. 1213-1250, Nov. 1991.

36. FOWLER, M. E. Liver diseases of wild animals. In: Temas de Clínica Veterinária Aplicadas a Animais Selvagens. **Anais...**São Paulo: Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Divisão de Veterinária, 1997.p.2-220.
37. GEORGE, T. F. *et al.* Anatomic atlas for computed tomography in the mesaticephalic dog: head and neck. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Schaumburg- IL, v. 33, n. 4, p. 217-240, 1992.
38. GRANDAGE, J. Functional anatomy of the digestive system. In: SLATTER, Douglas. **Textbook of Small Animal Surgery**. 2. ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Company, 1993, p. 483-502
39. GREENE, S. A. Anesthesia management: hepatic diseases. In: THURMON, J.C.; TRANQUILI, W.J.; BENSON, G.J. **Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia**, 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996, p. 791-797.
40. GRIMAL, P. **A mitologia grega**. 4. ed. São Paulo-SP: Brasiliense, 1987.
41. HENRIKSSON, L. *et al.* Ultrasound and scintigraphy of the liver in focal and diffuse diseases. **Acta Radiologica**, Stockholm-Sweden, v. 28, p. 165-169, 1987.
42. HITT, M.E. *et al.* Percutaneous transabdominal hepatic needle biopsies in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg- IL, V. 53, n. 5, p. 785-787, May 1992.
43. HOUNSFIELD, G. N. Computerized transverse axial scanning. Part I Description of system. **British Journal of Radiology**, London-U.K., v. 46, p. 1016-1022, 1973.
44. ITAI, Y. *et al.* CT and MR imaging of postnecrotic liver scars. **Journal of Computer Assisted Tomography**, New York-NY, v. 12, n.6, p.971-975, Nov./Dec. 1988.
45. JACKSON, M. W. Classification and pathophysiology of liver disease. In: Waltham Symposium on Liver Disease (Birmingham, UK). **Proceedings...** Leicestershire, UK: WALTHAM, Centre for Pet Nutrition, Melton Mowbray, 1996. p. 5-11.
46. JOHNSON, S. E. Acute hepatic failure. In: ETTINGER, Stephen J. & FELDMAN, Edward C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine – Diseases of The Dog and Cat**. 4.ed.Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1995. p. 1313-1357.
47. KAY, N. D. *et al.* Diagnosis and management of an atypical case of canine

- hydrocephalus using computed tomography, ventriculoperitoneal shunting and nuclear scintigraphy. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 188, n. 4, p. 423-426, Feb. 1986.
48. KELLY, R. W. The liver and biliary system. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C. & PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. San Diego-CA: Academic Press Inc., 1993. p. 319-406.
49. KERWIN, S.C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia - PA, v. 25, n. 2, p. 275-291, Mar. 1995.
50. KRAFT, S.L. *et al.* Canine brain anatomy on magnetic resonance images. **Veterinary Radiology**, Schaumburg- IL, v. 30, p. 147-158, 1989.
51. KRISTENSEN, A. T. *et al.* Liver cytology in cases of canine and feline hepatic disease. **Compendium on Continuing Education for The Practicing Veterinarian**, Trenton-NJ, v.12, n.6, p. 797-809, June 1990.
52. KUNIEDA, T. *et al.* Experimental study on quantitative evaluation of fatty liver by computed tomography. **Nippon Geka Gakkai Zasshi**, Japan, v. 85, n. 11, p. 1472-1478, Nov. 1984.
53. LAMB, C. R. Imaging techniques for hepatic disease. In: Waltham Symposium on Liver Disease (Birmingham, UK). **Proceedings...** Leicestershire, UK: WALTHAM, Centre for Pet Nutrition, Melton Mowbray, 1996. p. 12-19.
54. LeCOUTEUR, R. A. *et al.* Computed tomography of orbital tumors in the dog. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 180, p. 910-913, 1982.
55. LÉVEILLÉ, R.; PARTINGTON, B. P. *et al.* Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 cases (1984-1991). **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 203, n. 3, p. 1121-1124, Aug. 1993.
56. LINDGREN, L. Anaesthetic activity and side effects of propofol. **Current Opinion in Anaesthesiology**, New York-NY, v. 1 , n. 7, p. 321-325, 1994.
57. MATTOSO, L. F.; PERDIGÃO, F. **Tomografia computadorizada do abdômen**. Aplicações Clínicas e Análise Crítica do Método. São Paulo-SP: Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda, 1987.
58. MEYER, D. J. Hepatic pathology. In: GUILFORD, W. G. *et al.* **Strombeck's Small Animal Gastroenterology**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1996, p. 633 - 653.

59. MEYER, D. J. *et al.* **Interpretation and Diagnosis in Veterinary Laboratory Medicine**. Philadelphia, PA, W. B. Saunders Company, 1992.
60. MINGUETTI, G. *et al.* Considerações sobre tomografia computadorizada. **Revista da Associação Médica Brasileira**, Rio de Janeiro-RJ, v. 27, n.8, p.241-246, 1981.
61. MOLLEREAU, H. *et al.* **Vade-Mecum du Vétérinaire**. Paris: Vigot Frères, Éditeurs, 1952.
62. MULLEN K.D.; BIRGISSON S. *et al.* Animal models of hepatic encephalopathy and hyperammonemia. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York-NY, v. 368, p. 1-10, 1994.
63. NOONAN, N. E. Variations of plasma enzymes in the pony and the dog after carbon tetrachloride administration. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg- IL, v. 42, n. 4, p.674-678, Apr. 1981.
64. OSBORNE, C. A. Clinical evaluation of needle biopsy of the kidney and its complications in the dog and cat. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 158, n. 7, p. 1213-1228, Apr. 1971.
65. OSBORNE, C. A. *et al.* Percutaneous renal biopsy in the dog and cat. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 151, n. 11, p. 1474-1480, Dec. 1967.
66. OSBORNE, C. A. *et al.* Liver biopsy. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia-PA, v. 4, n.2, p.333-350, May 1974.
67. OWENS, J. M. Gastrointestinal diagnostic imaging. In: BONAGURA, John.D. **Kirk's Current Veterinary Therapy XII Small Animal Practice**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1995, p. 659-664.
68. PARK, R.D. *et al.* Magnetic resonance imaging of the normal equine digit and metacarpophalangeal joint. **Veterinary Radiology**, Schaumburg- IL, v. 28, p. 105-116, 1987.
69. PASS, M. A. Physiology of the digestive system. In: SLATTER, Douglas. **Textbook of Small Animal Surgery**. 2. ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Company, 1993, p. 502-510.
70. PENNINCK, D. G. *et al.* The technique of percutaneous ultrasound guided fine-needle aspiration biopsy and automated microcore biopsy in small animal gastrointestinal diseases. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Philadelphia-PA, v. 34, n. 6, p. 433-436, 1993.

71. PENNINCK, D. G. Liver imaging in the cat. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery** (Small Animal), Philadelphia-PA, v. 12, n. 1, p. 10-21, Feb. 1997.
72. PLUMBER, S. B. *et al.* Computed tomography of primary inflammatory brain disorders in dogs and cats. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, Schaumburg-IL, v. 33, n. 5, p. 307-312, 1992.
73. RADIN, R. D. Cocaine-induced hepatic necrosis: ct demonstration. **Journal of Computer Assisted Tomography**, New York-NY, v. 16, n.1, p. 155-156, Jan./Feb. 1992.
74. ROBINSON, E. *et al.* Propofol: a new sedative-hypnotic anesthetic agent. In: BONAGURA, John.D. **Kirk's Current Veterinary Therapy XII Small Animal Practice**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1995, p. 77-81.
75. ROGERS, W. A. Diseases of the liver. In: JONES, Brent D. & LISKA, William D. **Canine and Feline Gastroenterology**, Philadelphia-PA: W. B. Saunders Company, 1986. p. 345-379.
76. ROTH, L. *et al.* Interpretation of liver biopsies. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia - PA, v. 25, n. 2, p. 293-303, Mar. 1995.
77. RUSTGI, A. K. *et al.* Hepatic imaging and advanced endoscopic techniques. **Medical Clinics of North America**, Philadelphia-PA, v. 73, n.4, p. 895-929, July 1989.
78. SANDS M.S. *et al.* Computed tomographic enhancement of liver and spleen in the dog with iodopamide ethyl ester particulate suspensions. **Investigative Radiology**, Philadelphia-PA, v. 22, n. 5, p. 408-416, May 1987.
79. SCHERDING, R. G. Acute hepatic failure. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia-PA, v. 15, n. 1, p.119-133, Jan. 1985.
80. SCHEN, J.C. *et al.* Ultrasound of small hepatic tumors using high resolution linear array real-time instruments. **Radiology**, Oak Brook-IL, v. 150, n. 2, p. 797-800, 1979.
81. SHERLOCK, S. a. Anatomia e função do fígado. In: \_\_\_\_\_ **Doenças do fígado e do sistema biliar**. Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 1991. p. 1-13.
82. SHERLOCK, S. b. Biópsia hepática por agulha. In: \_\_\_\_\_ **Doenças do fígado e do sistema biliar**. Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 1991. p. 26-34.
83. SMALLWOOD, J. E. *et al.* a. Anatomic atlas for computed tomography in the

- mesaticephalic dog: Thorax and cranial abdomen. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Schaumburg-IL, v. 34, n. 2, p. 65-84, 1993.
84. SMALLWOOD, J. E. *et al.* b. Anatomic atlas for computed tomography in the mesaticephalic dog: Caudal abdomen and pelvis. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Schaumburg-IL, v. 33, n. 6, p. 143-167, 1992.
85. STROMBECK, D. R. *et al.* a. Liver: normal structure. In: \_\_\_\_\_ **Small Animal Gastroenterology**, London-UK: Wolfe Publishing Limited, 1991. p. 459-464.
86. STROMBECK, D. R. *et al.* b. Liver: normal function and pathophysiology. In: \_\_\_\_\_ **Small Animal Gastroenterology**, London-UK: Wolfe Publishing Limited, 1991. p. 465-518.
87. STROMBECK, D. R. *et al.* c. Laboratory evaluation for hepatic disease. In: \_\_\_\_\_ **Small Animal Gastroenterology**, London-UK: Wolfe Publishing Limited, 1991. p. 529-556.
88. STROMBECK, D. R. *et al.* d. General pathology of hepatic disease. In: \_\_\_\_\_ **Small Animal Gastroenterology**, London-UK: Wolfe Publishing Limited, 1991. p. 557-573.
89. STROMBECK, D. R. *et al.* e. Hepatic necrosis and acute hepatic failure. In: \_\_\_\_\_ **Small Animal Gastroenterology**, London-UK: Wolfe Publishing Limited, 1991. p. 574-592.
90. TERBLANCHE, J. *et al.* Animal models of fulminant hepatic failure. **Digestive Diseases and Sciences**, New York-NY, v. 31, n. 6, p. 770-774, June 1991.
91. TIDWELL, A. S. *et al.* Computed tomography-guided percutaneous biopsy: criteria for accurate needle tip identification. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Philadelphia-PA, v. 35, n. 6, p. 440-444, 1994
92. TIDWELL, A. S. *et al.* Computed tomography-guided percutaneous biopsy in the dog and cat: description of technique and preliminary evaluation in 14 patients. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Philadelphia-PA, v. 35, n. 6, p. 445-456, 1994
93. TORRES, W. E. *et al.* Computed tomography of hepatic morphologic changes in cirrhosis of the liver. **Journal of Computer Assisted Tomography**, New York-NY, v. 10, n.1, p. 47-50, Jan./Feb. 1986.
94. TUCKER, R. L. *et al.* Brain imaging. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia-PA, v. 26, n. 4, p.735-758, July 1996.
95. TURGUT K. *et al.* Pre- and postprandial total serum bile acid concentration

- following acute liver damage in dogs. **Zentralblatt fuer Veterinarmedizin**, Berlin-Germany, v. 44, n. 1, p. 25-29, Mar 1997.
96. TURREL, J. M.; FIKE, J. R. *et al.* Computed tomography characteristics of primary brain tumors in 50 dogs. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 188, n. 8, p. 851-856, Apr. 1986.
97. URHAHN, R. *et al.* Hepatic focal nodular hiperplasia: diagnosis by ultrafast gd-dtpa enhanced flash magnetic resonance. **Journal of Computer Assisted Tomography**, New York-NY, v. 15, n.5, p. 848-851, 1991.
98. VANSONNENBERG, E. *et al.* Sonographic appearance of hematoma in the liver, spleen and kidney: a clinical, pathologic and animal study. **Radiology**, Oak Brook-IL, v. 147, n. 2, p. 507-510, May 1983.
99. VAN VLEET, J.F. *et al.* Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxication and extrahepatic bile duct obstruction in the dog. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg-IL, p. 2119-2131, Nov. 1968.
100. WILBER, R.D. *et al.* Percutaneous liver biopsy. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Schaumburg-IL, v. 202, p.53-55, Oct. 1967.
101. WOLFF, R. K. *et al.* Detection of a liver tumor in a beagle dog using single photon emission computed tomography. **Veterinary Radiology**, Philadelphia-PA, v. 29, n. 4, p. 179-183, 1988
102. ZOOK, B. C., HITZELBERG, R. A. *et al.* Cross-sectional anatomy of the beagle thorax. **Veterinary Radiology**, Philadelphia - PA, v. 30, n. 6, p. 277-281, 1989.