

Pedro Eduardo Brandini Néspoli

Avaliação de técnicas de biópsia hepática e renal em ovinos

Tese apresentada à Escola de Veterinária - UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal/ Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias/ Orientador: Prof. Dr. Valentim Arabicano Gheller.

**BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA –UFMG
2008**

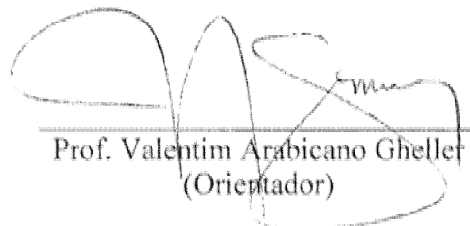
N462a Néspoli, Pedro Eduardo Brandini, 1971-
Avaliação de técnicas de biópsia hepática e renal em ovinos / Pedro Eduardo Brandini
Néspoli. – 2008.
120p. : il.

Orientador: Valentim Arabicano Gheller
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Ovino – Doenças – Teses. 2. Fígado – Biópsia – Teses. 3. Rins – Biópsia – Teses.
4. Ultra-sonografia veterinária – Teses. I. Gheller, Valentim Arabicano. II. Universidade
Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.308 96

Tese defendida e aprovada em 03 de março de 2008 pela Comissão Examinadora constituída por:



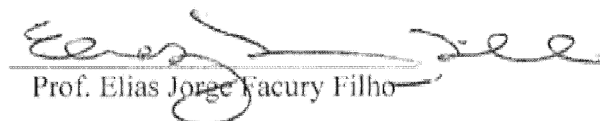
Prof. Valentin Arabicano Gheller
(Orientador)



Prof. Cicero Araújo Pitombo



Prof.^a Christina Malm



Prof. Elias Jorge Vacury Filho



Prof. José Renato Junqueira Borges

À minha família,
Priscilla, João e Helena,
minha força e inspiração...

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da UFMG, pela oportunidade e aporte na condução deste trabalho e na minha capacitação em diferentes áreas do conhecimento Veterinário.

À Universidade Federal de Mato Grosso, por permitir e financiar a minha qualificação.

Aos colegas da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UFMT, pelo suporte e apoio nestes anos de afastamento da Instituição.

À CAPES, pelo apoio financeiro, indispensável para a conclusão deste projeto.

Aos membros da banca examinadora, professores Christina Malm, José Renato, Cícero Pitombo e Elias Facury, pela disponibilidade e importante contribuição no aprimoramento deste trabalho.

Ao Professor Valentim, pelos ensinamentos cirúrgicos, através de abordagens coerentes, precisas e práticas. Pela amizade, orientação, apoio incondicionais e pela contribuição decisiva para a realização deste trabalho.

Aos professores de Patologia Clínica, Paulo e Fabíola, pela realização das análises e pelas orientações na área.

Aos professores Paulo Peixoto e Ticiane França, pela amizade de sempre e dedicação, orientação na área e realização de todo o trabalho histológico da tese, com a competência habitual.

Ao Ricardo, técnico do laboratório de histopatologia, pelo excelente trabalho desenvolvido.

Aos colegas Douglas, Ângela e Weston, pela amizade e pelo grande suporte na condução dos experimentos, indispensável para a conclusão deste trabalho.

À Laura e Renata, pela amizade e pela execução dos exames de patologia clínica.

Ao Professor Antônio Ultimo de Carvalho, pelo acesso à instituição, pela amizade, orientação e ensinamentos dedicados.

Aos demais professores da área de clínica de ruminantes, professores Paulo, Elias e Lívio, meu apreço, respeito pessoal e profissional.

Aos demais professores das áreas de cirurgia e reprodução animal, meu sincero agradecimento pelo aprendizado proporcionado.

Ao Gilberto, pelo companheirismo e amizade e pelo importante auxílio em muitas etapas da fase experimental deste trabalho.

Ao Ailtom, um exemplo de servidor entre seus pares, pelo apoio inestimável nos trabalhos experimentais.

Aos colegas pela amizade e pelo companheirismo nestes anos de estudo.

Aos meus pais, Dalgo e Marilene, pelo esforço e espírito de doação, pelo caráter e valores realmente importantes.

À Priscilla, pelos nossos filhos, pelo amor e dedicação, meu maior agradecimento.

SUMÁRIO

	RESUMO	12
1.	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1.	BIÓPSIA HEPÁTICA	15
2.1.1.	Aspectos anatômicos	15
2.1.2.	Biópsias hepáticas percutâneas cegas	15
	a. Local	15
	b. Instrumental	16
	c. Técnica	16
	d. Complicações	24
2.1.3.	Biópsias hepáticas guiadas por ultra-sonografia	24
	a. Técnica de ultra-sonografia hepática em ruminantes	24
	b. Técnicas de biópsia hepática guiadas por ultra-sonografia	25
	c. Outros procedimentos guiados por ultra-sonografia	27
2.1.4.	Biópsias hepáticas por laparoscopia	27
2.1.5.	Avaliação das amostras	29
2.1.6.	Alterações de patologia clínica.....	31
2.1.7.	Aplicações	33
2.2.	BIÓPSIA RENAL	36
2.2.1.	Aspectos anatômicos	36
2.2.2.	Contra-indicações e considerações pré-biópsia	36
2.2.3.	Biópsias renais percutâneas cegas e pela técnica “Keyhole”	37
2.2.4.	Biópsias renais cirúrgicas	39
2.2.5.	Biópsias renais percutâneas guiadas por ultra-sonografia	39
2.2.6.	Biópsias renais por laparoscopia	43
2.2.7.	Alterações de patologia clínica	44
2.2.8.	Avaliação das amostras	45
3.	MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1.	BIÓPSIA HEPÁTICA	47
3.1.1.	Animais e local	47
3.1.2.	Delineamento experimental.....	47
3.1.3.	Agulhas de biópsia	47
3.1.4.	Procedimentos de anti-sepsia e preparação dos animais para realização das técnicas de biópsia.....	47
3.1.5.	Técnicas de biópsia hepática	50
	a. Biópsia hepática percutânea cega com agulha de Menghini modificada	50
	b. Biópsia hepática percutânea cega com agulha Tru-cut semi-automática	50
	c. Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia com agulha de Menghini modificada	50
	d. Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia com agulha Tru-cut semi-automática	50
	e. Biópsia hepática por videolaparoscopia com pinça de biópsia laparoscópica de biópsia	50
	f. Biópsia hepática percutânea por videolaparoscopia com agulha de Menghini modificada	56
	g. Biópsia hepática percutânea por videolaparoscopia com agulha Tru-cut semi-automática	56
	h. Ressecção de fragmento hepático por videolaparoscopia	56

3.1.6.	Histopatologia	56
3.1.7.	Exame clínico e cuidados pós-operatórios	56
3.1.8.	Exames de patologia clínica	62
3.1.9.	Tratamento estatístico	62
3.2.	BIÓPSIA RENAL	62
3.2.1.	Animais e local	62
3.2.2.	Delineamento experimental.....	62
3.2.3.	Agulhas de biópsia	62
3.2.4.	Procedimentos de anti-sepsia e preparação dos animais para realização das técnicas de biópsia.....	63
3.2.5.	Técnicas de biópsia renal	63
	a. Biópsia renal percutânea “keyhole”	63
	b. Biópsia renal percutânea guiada por ultra-sonografia	64
	c. Biópsia renal por videolaparoscopia com pinça laparoscópica de biópsia.....	66
3.2.6.	Histopatologia	66
3.2.7.	Exame clínico e cuidados pós-operatórios	67
3.2.8.	Exames de patologia clínica	67
3.2.9.	Tratamento estatístico	67
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.1.	BIÓPSIA HEPÁTICA	68
4.1.1.	Exame clínico.....	68
4.1.2.	Sedação e analgesia	68
4.1.3.	Patologia clínica	70
	a. Bioquímica sérica	70
	b. Hematologia	74
4.1.4.	Execução das técnicas	76
4.1.5.	Achados macroscópicos	78
4.1.6.	Avaliação das amostras	81
	a. Tentativas.....	81
	b. Peso	82
	c. Veias centrolobulares	85
	d. Espaços-porta	86
	e. Qualidade da amostra	89
	f. Artefatos	92
4.2.	BIÓPSIA RENAL	92
4.2.1.	Exame clínico	92
4.2.2.	Sedação e analgesia	93
4.2.3.	Patologia clínica.....	96
	a. Uréia e creatinina	96
	b. Hematologia	98
	c. Urinálise	98
4.2.4.	Execução das técnicas	101
4.2.5.	Achados macroscópicos	103
4.2.6.	Avaliação das amostras	105
	a. Peso e número de tentativas	105
	b. Glomérulos	107
	c. Qualidade das amostras, artefatos e presença de tecido medular	108
5.	CONCLUSÕES	110
5.1.	BIÓPSIA HEPÁTICA	110
5.2.	BIÓPSIA RENAL	110
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
7.	ANEXO I	118

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Síntese de técnicas de biópsia hepática conduzidas às cegas em ovinos	17
Quadro 2 –	Síntese de técnicas de biópsia hepática conduzidas às cegas em bovinos	20
Quadro 3 –	Síntese de técnicas de biópsia hepática guiadas por laparoscopia em ruminantes.....	30
Quadro 4 –	Valores hematológicos e bioquímicos normais em ovinos.....	33
Quadro 5 –	Uso de biópsias para dosar minerais ou vitaminas hepáticas em ovinos.....	34
Quadro 6 –	Uso de biópsias hepáticas para investigações histopatológicas de enfermidades e intoxicações em ovinos	35
Quadro 7 –	Resumo das técnicas de biópsia renal conduzidas em ruminantes	40
Quadro 8 –	Descrição das técnicas de biópsia hepática utilizadas no experimento.....	48
Quadro 9 –	Seqüência de execução das técnicas de biópsia hepática em oito animais, com intervalos entre as técnicas de sete dias.....	48
Quadro 10 –	Descrição das agulhas de biópsia utilizadas de acordo com as técnicas de biópsia	49
Quadro 11 –	Descrição das técnicas de biópsia renal utilizadas no experimento.....	63
Quadro 12 –	Seqüência de execução das técnicas de biópsia renal em nove animais, com intervalos entre as técnicas de sete dias.....	63
Quadro 13 –	Achados clínicos observados nos animais de acordo com a técnica de biópsia hepática e número de tentativas empregadas	69
Quadro 14 –	Intervalo de variação do peso das amostras (mg) hepáticas obtidas com apenas uma tentativa	83
Quadro 15 –	Intervalo de variação do número de veias centrolobulares e espaços-porta das amostras obtidas com apenas uma tentativa	88
Quadro 16 –	Qualidade e grau de fragmentação parcial das amostras obtidas através de biópsias hepáticas.....	90
Quadro 17 –	Presença de grupos de hepatócitos eosinofílicos e hemorragia nas amostras obtidas através de biópsias hepáticas.....	91
Quadro 18 –	Achados clínicos observados nos animais de acordo com a técnica de biópsia renal e número de tentativas empregadas	95
Quadro 19 –	Observação de hematúria em ovinos de acordo com a técnica de biópsia, o número de tentativas e avaliação histológica das amostras renais	102
Quadro 20 –	Intervalo de variação do peso das amostras (mg) renais obtidas com apenas uma tentativa..	106
Quadro 21 –	Intervalo de variação do número de glomérulos presentes nas amostras renais obtidas com apenas uma tentativa	107
Quadro 22 –	Avaliações histológicas quantitativas e qualitativas das amostras renais	109
Quadro 23 –	Número individual de tentativas empregadas por técnica de biópsia hepática para obtenção de amostras representativas.....	118
Quadro 24 –	Peso total das amostras (mg) obtidas de cada animal através de técnicas de biópsia hepática.....	118
Quadro 25 –	Número total de veias centrolobulares presentes nas amostras obtidas de cada animal com as técnicas de biópsia.....	118
Quadro 26 –	Número total de espaços-porta presentes nas amostras obtidas de cada animal com as técnicas de biópsia	119
Quadro 27 –	Número individual de tentativas empregadas por técnica de biópsia renal para obtenção de amostras representativas.....	119
Quadro 28 –	Peso total das amostras (mg) obtidas de cada animal através das técnicas de biópsia renal..	119
Quadro 29 –	Número total de glomérulos presentes nas amostras obtidas de cada animal com as técnicas de biópsia.....	120

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Posicionamento do animal e definição do local para realização das biópsias hepáticas percutâneas	49
Figura 2 –	Agulhas utilizadas nas biópsias hepáticas percutâneas	51
Figura 3 –	Execução das técnicas de biópsia hepática percutâneas conduzidas às cegas	52
Figura 4 –	Execução das técnicas de biópsia hepática percutâneas guiadas por ultra-sonografia	53
Figura 5 –	Equipamentos de ultra-sonografia e de videolaparoscopia e instrumentais utilizados durante o experimento	54
Figura 6 –	Local de estabelecimento dos portais para videolaparoscopia e para introdução da agulha de Veress.....	55
Figura 7 –	Procedimentos iniciais da videolaparoscopia	57
Figura 8 –	Visualização da cavidade abdominal e introdução do segundo conjunto trocar/cânula durante a realização da técnica de biópsia hepática PL	58
Figura 9 –	Etapas das técnicas de biópsia hepática PL e ML e TL.....	59
Figura 10 –	Introdução de um terceiro conjunto trocar/cânula e de instrumentais para realização da técnica de biópsia hepática RL	60
Figura 11 –	Etapas da técnica de biópsia hepática RL	61
Figura 12 –	Etapas iniciais da técnica de biópsia renal TK	64
Figura 13 –	Continuação da seqüência da técnica de biópsia renal TK	65
Figura 14 –	Execução da técnica de biópsia renal TU	65
Figura 15 –	Seqüência de eventos da técnica de biópsia renal PL	66
Figura 16 –	Imagens endoscópicas da distensão da bolsa omental, da perfuração do intestino delgado e das lesões causadas pelas biópsias hepáticas percutâneas e pela técnica PL	79
Figura 17 –	Imagens endoscópicas das lesões determinadas pela técnica de biópsia hepática RL	80
Figura 18 –	Aspecto histológico do tecido hepático de ovinos obtido através de biópsias	87
Figura 19 –	Aspectos ultra-sonográficos da lesão renal causada pela técnica TK no animal dois.....	94
Figura 20 –	Aspecto macroscópico das hematurias e posicionamento do animal dois com estrangúria..	101
Figura 21 –	Aspecto macroscópico das lesões produzidas pelas biópsias renais	104
Figura 22 –	Aspecto macroscópico das lesões determinadas pelas biópsias renais (continuação)	105

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Peso médio e desvio padrão dos animais antes de cada procedimento de biópsia hepática ..	68
Gráfico 2 –	Valores individuais de GGT (U/l) sérica antes e três dias após a realização das técnicas de biópsia hepática	72
Gráfico 3 –	Valores médios e desvio padrão de GGT (U/l) sérica antes e três dias depois da realização de cada técnica de biópsia hepática	72
Gráfico 4 –	Valores individuais de AST sérica (U/l) de cada animal experimental antes e três dias depois da execução das técnicas de biópsia hepática	73
Gráfico 5 –	Valores médios e desvio padrão de AST (U/l) sérica antes e três dias depois da realização das técnicas de biópsia	73
Gráfico 6 –	Valores médios e desvio padrão de proteína total sérica e da albumina sérica (g/dl) durante o experimento de biópsia hepática	74
Gráfico 7 –	Valores médios e desvio padrão da hematimetria dos animais antes, durante e depois do experimento de biópsia hepática	75
Gráfico 8 –	Número de tentativas, peso das amostras e desvio padrão obtidos com as técnicas de biópsia hepática	84
Gráfico 9 –	Número médio e desvio padrão de veias centrolobulares (VCL) e espaços-porta (EP) observados de acordo com a técnica de biópsia hepática.....	88

Gráfico 10 –	Peso médio e desvio padrão dos animais antes de cada procedimento de biópsia renal	93
Gráfico 11 –	Valores individuais de uréia (mg/dl) no decorrer do experimento de biópsia renal	97
Gráfico 12 –	Valores individuais de creatinina (mg/dl) no decorrer do experimento de biópsia renal	97
Gráfico 13 –	Valores médios e desvio padrão da hematimetria dos animais antes, durante e depois do experimento de biópsia renal	99
Gráfico 14 –	Peso médio das amostras renais (mg) e desvio padrão obtidos por tentativa empregada para cada técnica de biópsia empregada.....	106
Gráfico 15 –	Número médio de tentativas e desvio padrão despendidos por técnica de biópsia renal para obtenção de amostras representativas	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Comparação do número médio de tentativas despendidas para obtenção de amostras representativas e do peso médio (mg) dos fragmentos hepáticos de acordo com as técnicas de biópsia empregadas.....	83
Tabela 2 –	Comparação do número médio de veias centrolobulares (VCL) e de espaços-porta de acordo com a técnica de biópsia empregadas.....	88
Tabela 3 –	Comparação entre parâmetros qualitativos das amostras de acordo com a técnica de biópsia hepática	89
Tabela 4 –	Comparação do número médio de tentativas despendidas para obtenção de amostras representativas e do peso médio das amostras (mg) obtidas com as técnicas de biópsia renal.....	106
Tabela 5 –	Comparação do número médio de glomérulos obtidos com as técnicas de biópsia renal	107
Tabela 6 –	Comparação dos parâmetros qualitativos das amostras de acordo com a técnica de biópsia renal	109

LISTA DE ABREVIÇÕES

∅	Diâmetro
AST	Aspartato aminotransferase
EI	Espaço intercostal
EP	Espaços-porta
GGT	Gama glutamil transferase
M	Menghini modificada
MC	Biópsia hepática percutânea cega com agulha de Menghini modificada
ML	Biópsia hepática percutânea assistida por videolaparoscopia com agulha de Menghini modificada
MU	Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia com agulha de Menghini modificada
TK	Biópsia renal percutânea “keyhole” com agulhas Tru-cut semi-automáticas
PL	Biópsia hepática por videolaparoscopia com pinça de laparoscópica de biópsia
TU	Biópsia renal percutânea guiada por ultra-sonografia com agulhas Tru-cut semi-automáticas
PL	Biópsia renal por videolaparoscopia com pinça laparoscópica de biópsia
RL	Ressecção de fragmento hepático por videolaparoscopia
T	Tru-cut semi-automática
TC	Biópsia hepática percutânea cega com agulha Tru-cut semi-automática
TL	Biópsia hepática percutânea assistida por videolaparoscopia com agulha Tru-cut semi-automática
TU	Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia com agulha Tru-cut semi-automática
VCL	Veias centrolobulares
VL	Videolaparoscopia
P1 (2 e 3)	Portal de videolaparoscopia 1 (2 e 3)

RESUMO

Devido à ausência de estudos que confrontem as técnicas de biópsia hepática e da carência de trabalhos sobre biópsias renais em ovinos, um estudo comparativo foi desenvolvido entre oito técnicas de biópsia hepática e sobre três técnicas de biópsia renal nesta espécie. Oito borregas ($17,95\text{kg} \pm 2,71$) e nove ovelhas ($26,64\text{ kg} \pm 4,86$) mestiças (Santa Inês) foram submetidas às biópsias hepáticas e renais seriadas, respectivamente. Entre os procedimentos hepáticos, seis técnicas percutâneas foram realizadas através do uso combinado de duas agulhas, Menghini modificada (M) e Tru-cut semi-automática (T), com biópsias cegas, guiadas por ultra-sonografia (US) e monitoradas por videolaparoscopia (VL). Nas outras duas técnicas, foram testados uma pinça laparoscópica de biópsia e um método de ressecção de fragmento hepático por VL. Para as biópsias renais, foram avaliadas as técnicas percutâneas “keyhole” e a guiada por US com agulhas T e uma técnica VL com uma pinça laparoscópica. Não foram observadas alterações hematológicas ou bioquímicas relevantes nos animais submetidos às biópsias hepáticas ou às renais e as manifestações clínicas detectadas foram leves e transitórias, exceto por um caso de obstrução uretral por coágulo sangüíneo. De uma forma geral, o uso da US e da VL nas biópsias percutâneas não resultou em acréscimo significativo do peso e da qualidade histológica das amostras hepáticas. Verificaram-se maior dificuldade na recuperação de fragmentos, maior oscilação do peso e uma tendência de menor qualidade das amostras obtidas com o uso das agulhas M do que com o das agulhas T. A qualidade das amostras recuperadas com ambas as técnicas VL foram equivalentes, porém o uso da técnica de ressecção resultou em maior peso das amostras e na formação de aderências hepáticas. A técnica “keyhole” foi relacionada com maior ocorrência e gravidade das hematórias, com danos mais graves ao tecido renal e com o único caso de obstrução do fluxo urinário. A técnica VL foi associada com hematórias discretas e com peso médio superior das amostras.

Palavras-chave: ovinos, biópsia renal, biópsia hepática, videolaparoscopia, ultra-sonografia

ABSTRACT

Since there are no studies that compare hepatic biopsy techniques and few on renal biopsies in ovines, a study was developed comparing eight hepatic biopsy techniques and three renal biopsy techniques in this species. Eight crossbred Santa Inês ewe lambs ($17.95\text{kg} \pm 2.71$) and nine ewes ($26.64\text{kg} \pm 4.86$) were subjected to serial hepatic and renal biopsies, respectively. Amongst the hepatic procedures, six biopsy techniques were performed using two needles, Menghini modified (M) and tru-cut semi-automatic (T), using the blind percutaneous technique, ultrasound-guided (US) and monitored by videolaparoscopy (VL). In the other two procedures, the use of laparoscopic biopsy forceps and the hepatic tissue resection technique by VL was evaluated. Renal biopsy specimens were obtained by the keyhole technique, ultrasound-guided, using T needles and VL with laparoscopic forceps. Adverse hematological or biochemical signs were not observed in the animals after the hepatic or renal biopsies and the clinical signs were slight and transitory, except for a case of urethral obstruction caused by the formation of blood clots. In general, the use of US and VL in the percutaneous biopsies did not result in a significant increase of weight or histological quality of the hepatic specimens. The use of M needles showed a greater difficulty at tissue sampling, higher weight oscillations, and a lower quality of the specimens obtained than when using T needles. Specimen quality obtained by both VL techniques was similar; however, the use of the resection technique resulted in higher sample weight and the formation of hepatic adhesions. The keyhole technique was associated with greater and more severe evidence of hematuria, damage to the renal tissue and a single case of obstruction of the urinary flow. The VL technique was associated with discrete evidence of hematuria and medium to superior weight of the specimens.

Key words: ovine, renal biopsy, liver biopsy, videolaparoscopy, ultrasonography.

1. INTRODUÇÃO

Os recursos disponíveis na clínica veterinária como as provas bioquímicas, a radiologia e a ultra-sonografia são utilizados nas investigações das suspeitas clínicas de enfermidades hepáticas e renais dos animais domésticos (Radostits et al., 2002). Embora possam confirmar indícios de comprometimento do órgão e determinar a relativa severidade da doença, estes métodos raramente fornecem diagnósticos específicos (Bunch et al., 1980; Barr, 1995). Neste contexto, o exame histopatológico obtido através de biópsias é essencial para o estabelecimento de diagnósticos e prognósticos mais precisos (Bunch et al., 1980) e viabiliza a formulação de terapias específicas (Osborne et al., 1996). Além disso, a colheita de amostras seriadas de tecido é uma alternativa importante para a investigação histológica de doenças tóxicas (Colodel et al., 2000) e para análise de substâncias em estudos de nutrição animal (Hidroglou e Ivan, 1993) e de farmacocinética (Chiesa et al., 2006). O emprego das biópsias seriadas nestes estudos diminui a necessidade de sacrifício dos animais e amplia a qualidade estatística dos delineamentos experimentais, uma vez que propicia o controle das variações individuais ao mesmo tempo em que reduz o número exigido de animais experimentais (Brown e Baird, 1988).

Desde a primeira descrição da biópsia hepática em ovinos (Dick, 1944), a técnica tem sido utilizada em estudos toxicológicos (Raposo et al., 1998), no diagnóstico de hepatopatias (Lofstedt et al., 1988; Kirkpatrick et al., 1999), mas principalmente nas investigações de nutrição animal (Donald et al., 1984). A princípio foram utilizados instrumentais de grosso calibre para recuperar amostras grandes o suficiente para a realização das análises minerais ou de vitaminas do parênquima hepático. Entretanto, com o advento de novas tecnologias de exame e da sensível

diminuição das necessidades de tecido para o mesmo fim (Braselton et al., 1997), o emprego das técnicas de biópsia e de instrumentais mais seguros e com maior repetibilidade pôde ser repensado.

Na maior parte dos estudos de biópsias hepáticas realizados em ovinos, os procedimentos foram conduzidos a partir de variações da técnica percutânea cega. Foram testados diferentes locais de punção e uma variedade de instrumentais e agulhas. Os resultados obtidos geralmente foram satisfatórios, com boa recuperação das amostras e mínimas complicações pós-operatórias (Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996). Já as técnicas de biópsia hepática guiadas por ultra-sonografia (Lofstedt et al., 1988), ou assistidas por laparoscopia (Phillippo, 1973; Hidroglou e Ivan, 1993) foram pouco exploradas na espécie ovina, apesar da reconhecida precisão e segurança relacionadas com o seu uso. De qualquer forma, ainda que tenham sido obtidos resultados positivos com o uso de técnicas e instrumentos diversos, não existem artigos disponíveis que comparem de forma ampla os efeitos das técnicas sobre os animais experimentais, bem como que confrontem a representatividade e a qualidade das amostras obtidas através das diferentes técnicas.

A biópsia renal, por sua vez, tem sido estudada apenas de forma superficial na espécie ovina. Embora o seu potencial para o diagnóstico de afecções renais seja pouco útil nesta espécie, em virtude da baixa incidência destas doenças, o uso de biópsias seriadas é bastante promissor nos estudos de farmacocinética (Toutain et al., 1985) e de toxicologia. Entretanto, os trabalhos disponíveis se limitam a poucos estudos experimentais invasivos e pouco práticos, nos quais foram utilizadas metodologias cirúrgicas (Mitchell e Williams, 1975) ou biópsias seriadas percutâneas após translocação cirúrgica de ambos os rins para o tecido subcutâneo (Toutain et al., 1985;

Brown e Baird, 1988). Não há referência do uso de métodos mais recentes descritos em outras espécies como as biópsias renais por videolaparoscopia (Chiesa et al., 2006) ou guiadas por ultra-sonografia (Wisloof et al., 2003), nem tampouco estudos que comparem as diferentes técnicas de biópsia renal.

Considerando o exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de se comparar algumas técnicas de biópsias hepática e renal, exequíveis em condições de campo, frente à obtenção das amostras e à ocorrência de complicações e efeitos adversos, bem como de se identificar as técnicas mais adequadas para a realização de experimentos seriados, que reconhecidamente diminuem a necessidade de sacrifício dos animais experimentais. Entre as biópsias hepáticas foram comparadas duas técnicas por videolaparoscopia e seis técnicas percutâneas, a partir do uso combinado de dois tipos de agulha com abordagens às cegas, guiadas por ultra-sonografia e por videolaparoscopia. Dentre as biópsias renais, foram descritas e comparadas uma técnica videolaparoscópica e duas técnicas percutâneas. Os animais foram submetidos a exames clínicos e de patologia clínica e as amostras avaliadas a partir do peso obtido, da qualidade histológica, da contagem do número de estruturas e da presença de artefatos no corte histológico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. BIÓPSIA HEPÁTICA

2.1.1. Aspectos anatômicos

O fígado do ovino adulto situa-se quase inteiramente na metade direita do abdome, relacionado com a face caudal do diafragma e coberto pelas costelas (Dyce et al., 1997). Apresenta um giro de 90° da sua posição

embrionária, em comparação com na maioria dos mamíferos, de modo que o lobo direito e esquerdo localizam-se no sentido dorsal e ventral, respectivamente (Habel, 1986). Sua projeção estende-se entre o terço ventral do sexto espaço intercostal à parte superior do 12º espaço. Nesta última porção, o fígado apresenta uma espessa borda dorsal, composta pelos lobos caudado e direito, que corresponde à única área de contato direto com a parede corpórea (Dyce et al., 1997), onde a percussão acústica revela som maciço desde o último espaço intercostal até a margem caudal do campo pulmonar (Dirksen, 1993). Em uma posição mais ventral, o vértice cego da vesícula biliar piriforme projeta-se além da margem lateral do lobo direito e aparece contra o diafragma, em oposição à parte ventral da 10ª ou 11ª costela. Os lobos esquerdo e quadrado situam-se mais ventro-cranialmente, localizados abaixo da área de projeção do pulmão direito (Dyce et al., 1997).

2.1.2. Biópsias hepáticas percutâneas cegas

a. Local

Há grande variação entre os locais utilizados para realização das biópsias percutâneas nos ovinos. São utilizados geralmente como referência principal os espaços intercostais (EI), que em ovinos varia desde o 8º (Pearson e Craig, 1980) e 9º EI (Dick, 1944), até porções mais caudais como o início da fossa paralombar direita (Hogan et al., 1971). Entretanto, nos estudos mais recentes, o uso do 10º EI tem sido disseminado entre os autores (Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996; Scherer et al., 2000). Como segunda referência são empregadas a distância fixa da coluna vertebral até o EI escolhido (Hogan et al., 1971; Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996) ou a intersecção do EI com linhas que interligam estruturas anatômicas adjacentes (Dick, 1944; Scherer et al., 2000) (Quadro 1).

Na espécie bovina, apesar do número maior de trabalhos realizados a este respeito, nota-se menor variação entre os locais escolhidos para execução das biópsias. Na maior parte dos estudos foram utilizados o 11º EI como referência principal (Loosmore e Allcroft, 1951; Pearson e Craig, 1980; Braga et al., 1985; Amorim et al., 2003), seguidos pelo 12º (Graner, 1950; Whitehair et al., 1952) e 10º EI (Udall et al., 1952; Hughes, 1962). Nos trabalhos mais antigos, a segunda referência mais comumente utilizada era uma distância fixa da coluna vertebral até a o EI determinado (Graner, 1950; Loosmore e Allcroft, 1951; Udall et al., 1952; Whitehair et al., 1952). Nos artigos mais recentes houve uma tendência de se utilizar a interseção de linhas imaginárias, relacionadas com estruturas anatômicas adjacentes, com o EI escolhido (Pearson e Craig, 1980; Braga et al., 1985; Amorim et al., 2003) (Quadro 2). Este último método minimiza os erros de execução da técnica produzidos pelas variações raciais e/ ou de faixa etária (Braga et al., 1985), uma vez que as linhas de referência variam proporcionalmente de acordo com o porte dos animais.

b. Instrumental

Desde a primeira adaptação de um instrumental de biópsia da Medicina Humana para ovinos (Dick, 1944), uma grande variedade de instrumentais tem sido preconizada. Os conjuntos trocarte/cânulas de biópsia utilizados para dosar substâncias hepáticas em ovinos variaram de 4 a 6mm de diâmetro externo (Dick, 1944; Hogan et al., 1971; Donald et al., 1984) e 17 a 30cm de comprimento (Dick, 1944; Hogan et al., 1971; Donald et al., 1984). Em estudos mais recentes, o emprego de instrumentais da linha humana tem sido crescente, principalmente para fins de diagnóstico histológico, em que não há necessidade de amostras de grandes proporções. São descritos o uso de agulhas de Menghini (Pearson e Craig, 1980), de Silverman

(Scherer et al., 2000), de Silverman modificada (Pearson e Craig, 1980) e de agulhas Tru-cut (Pearson e Craig, 1980; Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996) (Quadro 1).

Um grande número de instrumentais foi descrito para biópsia hepática em bovinos. A maior parte trouxe dimensões e comprimentos distintos de conjuntos trocarte/cânula para realização de biópsias aspirativas, com algumas modificações no acoplamento da seringa e na extremidade distal do aparato. Foram descritos instrumentais de 3mm (Garner, 1950) a 11,5mm (Hughes, 1962) de diâmetro externo e comprimentos que variam de 16cm (Erwin et al., 1956) a 33,6cm (Chapman et al., 1963) (Quadro 2). Em alguns estudos os instrumentais diferiram substancialmente dos demais. Descreveu-se o uso de trocarte e cânula soldados à seringa (Garner, 1950), “punch” com dispositivo distal para secionar a base da amostra (Whitehair et al., 1952), Tru-cut com diâmetro externo de 6,35mm (Buckley et al., 1986) e cânula com extremidade fechada e cortante, com janela lateral, associada a um trocarte interno, oco e com extremidade cortante (Simpson, 1987). Além disso, também existiram relatos do uso de agulhas de Menghini (Pearson e Craig, 1980; Braga et al., 1985), agulhas Tru-cut (Pearson e Craig, 1980; Dirksen, 1993) e de Silverman modificada (Pearson e Craig, 1980; Dirksen, 1993).

c. Técnica

Nos ovinos, os procedimentos foram realizados com os animais em estação (Pearson e Craig, 1980, Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996), com membros anteriores suspensos (Donald et al., 1984) ou em decúbito dorsal (Dick, 1944). Já entre os bovinos, verifica-se que na grande maioria dos estudos, os animais foram contidos em estação (Udall et al., 1952; Whitehair et al., 1952; Pearson e Craig, 1980; Braga et al., 1985; Amorim et al., 2003).

Quadro 1. Síntese de técnicas de biópsia hepática conduzidas às cegas em ovinos.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Dick (1944)	Estilete de 4mm Ø ¹ e 18cm de comprimento. Cânula com 5mm Ø externo: uma extremidade com bordos cortantes e outra adaptada para acoplar seringa de 20ml.	Nono espaço intercostal (EI) ² , 2,5cm abaixo da linha que se estende da extremidade externa da 13ª costela até a cartilagem xifóide.	Anestesia local com produto a base de novocaína e adrenalina.	Biópsia aspirativa. Decúbito dorsal. Incisão de pele. Trocarte/cânula introduzidos através de incisão da pele até ultrapassar o órgão.	-	2 a 4cm de comprimento e 0,25 a 0,5g de peso.	Não observadas.
Hogan et al. (1971)	Cânula com 6mm Ø externo e 30cm de comprimento, com extremidade acoplável à seringa.	Local de punção atrás da última costela, 7,5 a 10cm abaixo da coluna vertebral.	- ³	Biópsia aspirativa.	7 a 9 colheitas através da mesma incisão. Animais sacrificados a seguir.	0,02 a 0,12g de matéria seca.	Animais sacrificados logo após a realização das biópsias.
Pearson e Craig (1980) (revisão)	Não descreve o uso de agulha específica. Cita agulhas de Menghini, Tru-cut e agulha de Silverman modificada. Destaca comprimento de agulha utilizado: 15cm.	8º EI na direção da parte baixa da fossa paralombar.	Anestesia local com lidocaína 2%.	Animal em estação. Pequena incisão no local de punção. Agulha direcionada no sentido caudal e levemente medial.	-	-	-
Donald et al. (1984)	Cânula com 6mm de diâmetro externo e 17cm de comprimento, com extremidade acoplável à seringa.	Junção da região xifóide com a região paracondríaca direita	Sedado com xilazina 2% e anestesia local com xilocaína 2%.	Biópsia aspirativa. Animal contido com membros anteriores suspensos.	Realizadas de 1 a 4 vezes no mesmo animal. Intervalos de 1 a 2 meses.	Peso de 60 ± 30mg.	Duas mortes entre os 120 animais utilizados (cerca de 600 biópsias). Não houve diferenças no ganho de peso entre grupos com maior ou menor número de biópsias.

1. Ø: diâmetro; 2. EI: espaços intercostais; 3. - : não mencionado nos artigos

Continuação do quadro 1.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Harvey et al. (1984)	Agulha Tru-cut (14 G X 11,5cm).	10cm ventral ao processo transverso no 10º EI.	Anestesia local com lidocaína 2%.	Animal em estação. Agulha inserida em incisão de 2cm de extensão na direção caudomedial, levemente no sentido ventral, na profundidade aproximada de 6cm. Ferida não suturada.	Experimento 1: intervalos semanais durante 5 semanas. Experimento 2: 2 intervalos de 3 dias, seguidos por 2 intervalos de 7 dias.	7 a 15mm de comprimento e peso médio de 25mg.	Não observaram alterações clínicas, ou modificações relevantes nos parâmetros hematológicos e de bioquímica sérica.
Ferreira et al. (1996)	Agulha Tru-cut com 1,5mm de diâmetro.	10º EI, a 9cm do processo espinhoso.	Anestesia local com "Xylotox".	Animal em estação. Incisão de 6mm de extensão e introdução da agulha em posição verticalizada.	Três repetições por animal em única vez..	O peso das amostras frescas somadas atingiram cerca de 22 mg.	Não foram observadas mortalidades ou alterações no ganho de peso dos animais ou na ingestão de alimentos.
Scherer et al. (1999)	Agulha de Silverman com 115X20mm, composta de uma câmara externa, um canhão "Luer-lock" e uma câmara interna bifurcada e biselada.	Três linhas como referência: 1) coxal à extremidade proximal da escápula. 2) coxal à extremidade distal da escápula. 3) da 1ª à 2ª linhas sobre o 10º EI. Ponto de biópsia: na interseção entre o ponto médio da 3ª linha e o 10º EI.	Não utilizou anestesia local ou sedação.	Agulha introduzida no sentido cranial. Substituído o canhão "luer-lock", a câmara interna era introduzida no parênquima com movimentos rotatórios por cerca de 1cm de profundidade.	-	-	-
Scherer et al. (2000)	Agulha de Silverman com 115-20mm.	No 10º espaço intercostal, com uso de três linhas como referência.	Não utilizou anestesia local ou sedação.	Agulha introduzida no sentido cranial.	-	-	Animais foram sacrificados 24 horas após a realização das biópsias.

A técnica empregada nos diferentes estudos variou de acordo com o local da biópsia e o tipo de instrumental utilizado. Com instrumentais de maior diâmetro a introdução nas cavidades corpóreas era realizada através de uma incisão na pele (Udall et al., 1952; Hughes, 1962; Chapman et al., 1963; Buckley et al., 1980; Amorim et al., 2003). Já as agulhas de menor calibre foram introduzidas tanto através de pequena incisão (Pearson e Craig, 1980; Ferreira et al., 1996) como também através da pele íntegra (Scherer et al., 1999; Scherer et al., 2000) ou por intermédio de agulha hipodérmica de grosso calibre (Braga, 1985). A adoção de infiltração de anestésico local variou entre os autores. Na maior parte dos estudos a infiltração anestésica foi empregada (Quadros 1 e 2). Entretanto, em parte dos trabalhos não há citação ou descreve-se que o procedimento não foi utilizado (Erwin et al., 1956; Hughes, 1962; Chapman et al., 1963; Scherer et al., 2000) por ser considerado desnecessário (Scherer et al., 2000). O sentido para introdução dos aparatos teve influência direta do local escolhido para a realização das biópsias. Quando o instrumento foi introduzido nos EI mais caudais, como 11° ou 12°, geralmente se adotou o sentido crânio-ventral (Seghetti e Marsh, 1953; Bone, 1954; Pearson e Craig, 1980). Em contrapartida, nos EI mais craniais, como 8°, 9° e 10° EI, o aparato foi direcionado no sentido caudo-medial (Hughes, 1962; Harvey et al., 1984; Pearson e Craig, 1980) (Quadros 1 e 2).

A maior parte dos autores descreve a técnica de biópsia aspirativa de forma similar ao exposto por Dirksen (1993). À medida que o conjunto trocarte/cânula é introduzido na cavidade abdominal e atinge a superfície do fígado, o mandril é retirado para se acoplar uma seringa. Em seguida, a cânula é introduzida no fígado, em movimentos rotatórios ao mesmo tempo em que se traciona o êmbolo da seringa. Depois como breve recuo (1 a 2cm) e novo avanço do instrumento em direção ligeiramente

alterada, o cilindro puncionado livra-se da sua base (Dirksen, 1993).

Em alguns estudos a este respeito os procedimentos diferem em alguns aspectos relevantes. Descrevem-se técnicas em que a cânula ultrapassa toda extensão transversal do fígado (Dick, 1944; Udall et al., 1952; Chapman et al., 1963) ou que dispensam o uso de seringas. Nesta última técnica, a pressão negativa, aplicada para se retirar a amostra, pode ser criada à medida que se comprime o dedo na extremidade proximal da cânula, ao mesmo tempo em que a cânula é movimentada (Udall et al., 1952; Amorim et al., 2003), ou pelo uso de um aparato equipado com um anel de borracha na base da cânula. Um dispositivo que permite a criação de pressão negativa à medida que o trocarte é tracionado (Hughes, 1962).

Já o uso das agulhas Tru-cut e de Vim-Silverman não está sujeito a variações substanciais. A agulha de Vim-Silverman é introduzida na cavidade com mandril. Uma vez sob a cápsula do órgão procede-se a retirada do mandril. Em seguida o estilete em forquilha munido com farpas é introduzido além da ponta da agulha no tecido hepático. Então, ambas as partes são retiradas junto com o fragmento de tecido preso entre as farpas do estilete. A agulha Tru-cut, por sua vez, é introduzida no tecido hepático com o mandril recolhido. A cânula externa é puxada para trás, para que o tecido possa penetrar nos sulcos do mandril. Em seguida, à medida que a cânula avança sobre o entalhe, o fragmento hepático é seccionado (Dirksen, 1993).

Em um trabalho comparativo de biópsias com conjuntos trocarte/cânula e com instrumental de grosso calibre, com mecanismo de guilhotina, verificou-se que a prática parece mais importante para realização da biópsia com o método aspirativo do que com o instrumental testado. A principal razão associada a isto foi a perda da amostra em função de falha

Quadro 2. Síntese de técnicas de biópsia hepática conduzidas às cegas em bovinos.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Freqüências e intervalos	Amostras	Complicações
Garner (1950)	Cânula de 3mm soldada a seringa de 50ml (holborn). Trocarte correspondente soldado à estrutura metálica distal que sustenta o êmbolo. Extremidade da cânula oblíqua e cortante internamente.	12° espaço a cerca de 25 cm da coluna vertebral (varia com tamanho do animal; apropriado para zebuínos e deve ser modificado para bovinos tipo "shorthorn").	Anestesia local: 1,5 a 2ml de hidroclorito de procaína, superficialmente e mais 20ml profundamente.	Animal em estação ou decúbito lateral esquerdo. Em decúbito a pressão do rúmen mantém o fígado em contato estreito com a parede abdominal. Incisão de 1cm. Biópsia aspirativa. O conjunto trocarte/cânula está acoplado à seringa, o que garante agilidade ao procedimento.	—	Amostras pequenas, presentes em 90% dos casos.	Não foram observadas complicações.
Loosmore e Allcroft (1951)	Trocarter de 18cm de comprimento e 4mm Ø. Cânula fina com 5mm de diâmetro externo, com extremidade cortante.	11° espaço intercostal, 15 a 20cm da linha média dorsal, de acordo com a idade do animal.	Infiltração local de 5 a 6ml de procaína.	Animal em estação. Passagem do conjunto trocarte/cânula através de incisão de 1,25cm. Biópsia aspirativa. Não houve sutura da ferida.	—	Peso médio 0,4g. Repetições no mesmo momento (até 1,5g de tecido).	Não foram observadas complicações.
Udall et al. (1952)	Cânula de 23cm de comprimento com Ø interno de 0,5cm. Trocarte ajustável à cânula, no comprimento e Ø externo.	Área de punção varia com a idade do animal. Utilizou-se o 10° espaço intercostal ou o 11°, a ¼ da distância entre a coluna vertebral e a junção costochondral.	Anestesia com 5ml de procaína 3%.	Animal em estação. Conjunto trocarte/cânula introduzido através da incisão de pele (0,5cm) em direção perpendicular ao corpo. Biópsia aspirativa sem seringa. Cânula introduzida até ultrapassar transversalmente o órgão.	Vários animais biopsiados 10 vezes em um prazo de 7 meses.	Peso acima de 0,7g.	Apenas um animal morreu (lesão do ducto torácico). Demais animais não apresentaram danos aparentes.
Whitehair et al. (1952)	Cilindro com 1,25cm de Ø por 3cm de comprimento, com extremidade cortante e um laço de arame de piano acoplado ao instrumento, que uma vez acionado por um mecanismo de gatilho secciona a porção distal do fragmento de biópsia.	12° EI, 25cm abaixo da linha mediana.	Infiltração de 10ml de anestésico local.	Animal contido em estação. Introduce-se um trocarte, através de incisão, até a cavidade peritoneal. Sob visualização a área de biópsia é localizada. Em seguida, o instrumental de biópsia é manipulado sobre o órgão até a retirada da amostra. Procede-se a sutura da ferida cirúrgica.	Em um experimento 4 animais foram biopsiados mensalmente por um período de um ano.	Peso de 1,5 a 2,5g.	Não foram observadas complicações.

1. Ø: diâmetro; 2. EI: espaços intercostais; 3. — : não mencionado nos artigos

Continuação do quadro 2.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Seghetti e Marsh (1953)	Trocarte com 21,5cm de comprimento e 6mm Ø. Cânula com 8mm Ø externo e 6,25mm Ø interno. Na base um adaptador para seringa e na ponta bordos cortantes.	11º espaço intercostal, 21cm ventral ao dorso do processo espinhal da vértebra correspondente.	Anestesia local com 5 a 7ml de hidroclorito de procaína 3%.	Incisão de 1,5cm. Conjunto introduzido crânio-ventralmente em angulação de 15º em relação ao plano horizontal. Biópsia aspirativa. Não realizou-se sutura da ferida.	—	3 a 9 cm de comprimento e peso de 0,7 a 1,9g.	Não foram observadas complicações.
Bone (1954)	Cânula de 17,5cm de comprimento por 8mm Ø externo e 7mm Ø interno. Ponta cortante e base adaptável à seringa. Dois trocartes, um com ponta cortante de 4 lados e outro com a ponta romba.	11º espaço intercostal, 25 a 30cm ventro-lateral a articulação das costelas.	5 a 10ml de solução de procaína 4%.	Animal em estação. Biópsia aspirativa. Conjunto trocarte/cânula introduzido através de incisão em sentido ventral em um ângulo de 20º.	Repetiu o procedimento por até 4 vezes pela mesma incisão.	Peso médio de 1g (0,7 a 1,7g).	Não foram observadas perdas da produção de leite ou efeitos adversos sobre o bem estar dos animais biopsiados.
Erwin et al. (1956)	Cânula de 16cm, com 8mm Ø interno. Suporte na base da cânula adaptável à ponta da seringa, em um mecanismo de encaixe (chave-fechadura).	11º espaço intercostal, 15cm da linha dorsal mediana.	Não utilizou anestesia.	Animal em estação. Incisão de pele. Biópsia aspirativa. Conjunto trocarte/cânula introduzido em ângulo de 45º cranial e ventral ao plano sagital.	4 biópsias no mesmo momento e em intervalos tão curtos quanto 5 dias (5 vezes).	1 a 1,25g.	Não foram observadas complicações.
Hughes (1962)	Dois conjuntos trocarte cânula: 1) Cânula de 31cm de comprimento, 11,51mm Ø externo e 9,53mm Ø interno. 2) cânula com 31cm, diâmetros de 9,53 e 7,94mm, externo e interno respectivamente. Trocartes de 34,5cm com Ø externo justos às respectivas cânulas. Na base da cânula acoplou-se um anel de neoprene.	10º, 11º e 12º EI 15 a 20cm da linha dorsal média. Sentidos: no 12º: para baixo em direção à entrada do tórax, na altura do ombro. No 11º: levemente para baixo, em direção ao ombro oposto. No 10º: levemente na direção posterior na direção do joelho.	Não utilizou anestesia.	Incisão de pele, extensa o bastante para passagem do instrumento. Biópsia aspirativa sem seringa. A presença do anel de borracha na base da cânula permitiu criação de pressão negativa à medida que o trocarte era tracionado. Não houve sutura da ferida.	—	3,8 e 5,11g com os instrumentos 2 e 1, respectivamente.	Em 500 procedimentos 3 animais morreram por penetração dos grandes vasos próximos à artéria aorta.

Continuação do quadro 2.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Chapman et al. (1963)	Trocarte de 33,65cm, lâmina de 24,13cm e ponta de 3,81 cm. Cânula com 20,32cm de comprimento e 0,635cm Ø interno.	11º espaço intercostal, 15 a 20cm abaixo da coluna vertebral.	Não utilizou anestesia.	Animal em estação. Biópsia aspirativa. Conjunto trocarte/cânula introduzido através de incisão, no sentido caudo-ventral. Cânula introduzida até ultrapassar o órgão. Não houve sutura ou curativo da ferida cirúrgica.	Intervalo de 28 dias por até 2 anos no mesmo animal.	—	Não foram observadas complicações.
Pearson e Craig (1980)	Agulhas com comprimento de 7,5cm são suficientes. Cita uso de trocartes de biópsia, agulha de Menghini, agulha de Vim-Silverman modificada e agulha Tru-cut.	Interseção entre uma linha horizontal da porção medial da fossa paralombar direita com o 11º EI.	Anestesia local com lidocaína 2%.	Pequena incisão no ponto de biópsia. Agulha introduzida levemente no sentido crânio-ventral.	—	—	Não foram observadas complicações.
Braga et al. (1985)	Agulha hipodérmica 20X40, agulha de Menghini 120X15.	Interseção entre uma linha paralela à coluna vertebral, a partir da tuberosidade ilíaca, com o 11º EI.	—	Animal em estação. Biópsia aspirativa. Agulha de Menghini introduzida através da agulha hipodérmica no 11º EI. Durante o procedimento o fragmento era aspirado para o interior da seringa, que continha solução fisiológica.	Biópsia realizada uma vez.	Peso médio de 1g (0,8 a 1,2g).	Não foram observadas alterações clínicas, ou modificações das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) 6 e 12 horas após a realização das biópsias.
Buckley et al. (1986)	Agulha Tru-cut: tubo com 6,35mm de diâmetro externo e 4,36mm Ø interno. Estilete com Ø compatível com o interior do tubo. Duas hastes de 3,18mm, sustentadas por um colar, foram utilizadas para guiar o deslizamento do estilete pelo tubo.	De acordo com Pearson e Craig (1980).	Anestesia local com lidocaína 2%.	Com estilete retraído agulha foi inserida através de incisão de 1 a 2cm. Após penetrar de 1 a 3cm no fígado, a cânula externa foi movida sobre o estilete. Agulha retirada em seguida com o fragmento no interior do recorte do estilete.	—	Cerca de 250mg (150 a 350mg).	Não foram observadas injúrias relevantes.

Continuação do quadro 2.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Simpson (1987)	1) Trocarte oco, com ponta cortante e janela lateral, com 14 cm de comprimento e 4mm Ø. 2) Outra cânula com ponta afiada ajustada para deslizar dentro do trocarte e base projetada para acoplar uma seringa. 3) Estilete utilizado para retirar o fragmento do interior da cânula.	11º EI, 15 a 20cm dos processos transversos das vértebras e a linha da parte baixa da fossa paralombar.	—	Trocarte e cânula interna são introduzidos na cavidade e avançados no parênquima hepático até encobrir a janela lateral do trocarte. A cânula interna é tracionada. Aplica-se pressão negativa com seringa, para em seguida, voltar a avançar a cânula interna e recortar a amostra.	—	6,5mm de comprimento por 2,5mm de diâmetro.	Não foram observadas complicações.
Nagarajan et al. (1992)	Não descreve o instrumental utilizado.	1) Interseção de linha horizontal da metade da fossa paralombar direita com o 11º EI. 2) 12º EI, 25cm abaixo da linha mediana. 3) ponto entre a 10ª e 12ª costelas sobre a linha: coxal ao ombro. 4) 11º EI, 15 a 20cm abaixo da coluna vertebral.	—	Não descreve técnica utilizada. Apenas compara eficiência de quatro locais para realização das biópsias em raça zebuína.	—	1) 2 cm de comprimento, 2) 1 cm, 3) menos que 1 cm. Recuperação (%): 100; 33,3; 66,7 e 66,7%, respectivamente.	Descreve não haver complicações para o local 1. Para os demais locais não há citação.
Dirksen (1993) (revisão)	Agulhas descartáveis Tru-cut ou trocarte para fígado (4mm Ø interno).	20 a 30cm lateral no 11 ou 12º EI, de acordo com a área de maciez hepática.	—	Tru-cut: Sobre o fígado o entalhe do mandril é avançado no parênquima hepático. Detalha técnica com os três tipos de agulha.	—	—	Geralmente não ocorrem complicações. Riscos potenciais: hemorragias, rompimento de abscessos ou ductos biliares congestionados, peritonite ou pleurite e pneumoperitônio.
Amorim et al. (2003)	Mandril com 25cm de comprimento. cânula com 23cm, Ø interno de 0,7 e externo 0,8mm.	Interseção entre uma linha paralela à coluna, com origem na metade da fossa paralombar direita com o 11º EI.	Anestesia com lidocaína 2%.	Animal em estação. Biópsia aspirativa sem seringa. Manteve pressão no interior da cânula mediante oclusão proximal da cânula com o dedo. Incisão de 1,5cm. Cânula inserida na direção do cotovelo esquerdo.	Biópsia realizada apenas uma vez.	Peso variou de 0,4 a 1,8g.	Sem complicações clínicas. Aumento da (AST) acima dos valores de referência para a espécie 24 horas após o procedimento. Fato não observado após 96 h.

na sucção por vazamento de ar na junção da cânula com seringa ou no interior da seringa. Além disso, o excesso de pressão causou também maceração da amostra (Buckley et al., 1986). A necessidade de treinamento para a realização de métodos aspirativos também foi relatada em outro artigo (Bone, 1954).

d. Complicações

Na grande maioria dos estudos realizados em ovinos e bovinos, as biópsias hepáticas percutâneas foram conduzidas sem complicações clínicas relevantes, a despeito do calibre do instrumental utilizado ou da frequência de procedimentos adotada pelos autores (Quadro 1 e 2). De qualquer forma, mesmo nos estudos em que ocorreram mortalidades dos animais experimentais, o número de fatalidades foi bastante baixo (Hughes, 1962; Donald et al., 1984;). Descreveu-se a morte de 2 ovinos em um total de 120 animais, pela realização de biópsia hepática na região paracondríaca direita, com o animal contido com os membros anteriores suspensos. Neste trabalho foram utilizados um conjunto trocar/cânula de grosso calibre (6mm) para a espécie e uma frequência mensal, com uma a quatro repetições (Donald et al., 1984). Em outro trabalho foi relatada a ocorrência de hemoglobinúria bacilar em um ovino biopsiado várias vezes, cerca de 12 dias antes da sua morte (Duncan, 1984).

Entre os trabalhos realizados em bovinos verificou-se mortalidades em dois estudos. No primeiro um animal morreu por lesão ao ducto torácico, após ser submetido a biópsias com um conjunto trocar/cânula de 5mm de diâmetro no 10º ou 11º EI (Udall et al., 1952). No segundo, as biópsias foram conduzidas tanto no 10º, 11º como no 12º, com conjuntos de 11,5 ou 9,5 mm de diâmetro externo. Em um total de 500 procedimentos, houve 3 mortes atribuídas à perfuração de grandes vasos próximos à aorta (Hughes, 1962). O uso da mesma metodologia descrita por Hughes (1962)

determinou a morte de dois bezerros em função de ruptura da veia porta e precipitou um surto de hemoglobinúria bacilar em bezerros em uma área onde a doença era enzoótica. A reprodução experimental da doença foi obtida através da realização de biópsias em bezerros, ovelhas e coelhos inoculados intravenosamente com cepas isoladas de *Clostridium hemolyticum* ou pela administração oral da suspensão de toxinas (Olander et al., 1966).

2.1.3. Biópsias hepáticas guiadas por ultra-sonografia

a. Técnica de ultra-sonografia hepática em ruminantes

Os bovinos são contidos em estação (Braun, 1990) e os pequenos ruminantes em estação (Yamaga e Too, 1984) ou decúbito lateral esquerdo (Gonzalo-Orden et al., 2003). Após realização de tricotomia, que se estende desde o 7º até o 12º espaço intercostal direito (Braun 1990) e de aplicação do gel para ultra-sonografia, os espaços intercostais do lado direito são escaneados desde o último espaço intercostal, no sentido ventro-dorsal das costelas, até as porções ventrais do 7º espaço intercostal (Braun, 1990). O fígado aparece amplo do 12º ao 10º espaços intercostais em bovinos (Braun, 1996) e caprinos (Yamaga e Too, 1984) e torna-se progressivamente menor cranialmente, em virtude da sobreposição do pulmão direito. Desta forma, a partir do 9º espaço são visíveis apenas as porções mais ventrais do órgão (Braun, 1996).

Nos bovinos, a veia cava caudal é sempre situada dorso-medialmente, à margem da borda dorso-cranial do fígado, e somente visualizada nos 11º e 12º espaços intercostais. A veia porta, com forma arredondada, é situada ventro-lateralmente à veia cava caudal e se estende do 12º ao 8º espaço intercostal. A vesícula biliar, sempre visível, situa-se na superfície visceral do fígado, à margem do seu bordo ventral, entre o 9º e 10º espaços intercostais. Apresenta

forma de pêra e imagem típica de vesícula preenchida por líquido, com conteúdo anecóico circundado por um fino halo hiperecótico. Embora o ducto cístico apareça como uma linha ecogênica ou estrutura tubular com conteúdo anecóico, o ducto biliar comum nem sempre é identificável em bovinos (Braun, 1996).

O equipamento utilizado varia entre autores, mas em bovinos observa-se largo uso de transdutores em tempo real de 3,5MHz lineares (Yamaga e Too, 1984; Braun 1996) ou setoriais (Lechtenberg e Nagaraja, 1989). Todavia, a aplicação de transdutores de 2,5MHz pode ser necessária em animais com fígados de grandes proporções para visualização de estruturas mais profundas. Por outro lado, considera-se que transdutores com frequências da ordem de 5,0MHz sejam insuficientes para o exame de bovinos, por não atingirem a profundidade necessária para a avaliação (Braun, 1996). Em caprinos e ovinos são descritos também o uso de transdutores de 3,5MHz (Yamaga e Too 1984), embora em ovinos as frequências maiores de 5,0MHz e de até 7,5MHz tenham sido utilizadas (Gonzalo-Orden et al., 2003).

b. Técnicas de biópsia hepática guiadas por ultra-sonografia

O uso da ultra-sonografia no monitoramento das biópsias percutâneas minimiza os riscos de punção de órgãos adjacentes e de laceração de grandes vasos sanguíneos (Barr, 1995), bem como permite a identificação precoce de hemorragias antes do aparecimento de sinais clínicos. A possibilidade de se visualizar os tecidos e o percurso da agulha no mesmo plano, permite que o operador realize biópsias de massas focais ou de órgãos com menor volume com grande precisão (Hager et al., 1985; Kerwin, 1995), bem como de animais obesos ou de animais em que não houve sucesso com as técnicas cegas convencionais (Hager et al., 1985).

Dentre os equipamentos utilizados para as biópsias guiadas por ultra-sonografia estão inclusos os transdutores lineares, setoriais mecânicos ou curvilineares e alguns tipos de agulhas e dispositivos automáticos. No emprego destes transdutores verificou-se que os setoriais não produzem imagens superficiais tão boas quanto os lineares e curvilineares. Por outro lado, apesar dos transdutores lineares apresentarem um largo campo de visão da porção inicial do trajeto da agulha, o ajuste da cabeça do transdutor à superfície do animal pode estar sujeito a dificuldades e limitações. Nos casos em que as janelas acústicas são limitadas, o uso dos transdutores setoriais e curvilineares, que detêm menor superfície de contato, são os mais indicados. De qualquer forma, seja qual for o transdutor utilizado, geralmente o fator decisivo para o sucesso do procedimento é a visualização da extremidade da agulha (Finn-Bodner e hathcock, 1993). Quando isto não é possível ou a visualização é precária, as evidências indiretas da punção do tecido, caracterizadas pela movimentação concomitante do órgão, podem ser usadas (Hager et al., 1985).

Entre as agulhas disponíveis, as Tru-cut são as mais recomendadas em função do seu fácil manuseio, da qualidade das amostras obtidas, da grande disponibilidade e da possibilidade de reutilização (Kerwin, 1995). Além disso, alguns dispositivos automáticos da linha de produtos humanos têm sido testados em cães e gatos (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995). São descritos o uso de instrumentos "Biopty" e "Monopty", que consistem em duas partes: um dispositivo mecânico de mola ativada e uma agulha especializada, com funcionamento similar ao das agulhas Tru-cut. No primeiro tipo apenas o canhão é reutilizável. No segundo tipo, ambas as partes são descartáveis (Kerwin, 1995). Nos dois dispositivos o avanço do estilete e da cânula externa da agulha ocorrem automaticamente. Um terceiro modelo consiste de um mecanismo semi-automático,

em que o mandril é avançado manualmente no órgão alvo e à medida que se dispara o gatilho de um dispositivo de mola, a cânula externa é avançada automaticamente sobre o entalhe do estilete (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

Tais dispositivos garantem alta qualidade das amostras (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995), com menor fragmentação da amostra, com bordos mais bem definidos e menor formação de artefatos por compressão (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). O uso destes produtos também resulta em maior agilidade ao procedimento (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995), fato que reduz o tempo e número de tentativas, diminui o desconforto do animal e minimiza os riscos inerentes como danos ao órgão alvo (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

Em contraste às técnicas convencionais, a biópsia percutânea guiada por ultra-sonografia pode ser realizada em qualquer região da área de projeção ultra-sonográfica do fígado. O local escolhido depende da localização da lesão, dos grandes vasos sanguíneos e da vesícula biliar. A partir da imagem ultra-sonográfica a agulha de biópsia é direcionada através da cavidade abdominal e do parênquima hepático até o foco de colheita de interesse. Os métodos de aspiração do parênquima ou de coleções de líquidos também podem ser monitorados da mesma forma (Braun, 1996).

A agulha de biópsia pode ser introduzida através de um guia de biópsia estéril acoplado ao transdutor ou mediante introdução livre da agulha, sem qualquer acoplamento ao transdutor (técnica descrita como “freehand”) (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Léveillé et al., 1993; Kerwin, 1995). O guia de biópsia produz uma trajetória correspondente sobre a imagem ultra-sonográfica. Durante o procedimento, esta trajetória da agulha é direcionada sobre a lesão alvo. De acordo com a introdução da agulha, verifica-se a imagem ultra-

sonográfica da sua passagem no percurso do trajeto até a região de interesse. A maioria dos guias apresenta forma específica para cada transdutor e podem acomodar, geralmente, agulhas com calibre de 16 a 22G. Já as agulhas mais calibrosas dependem de adaptação dos guias ou de guias específicos (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

A técnica sem o guia imprime maior flexibilidade ao procedimento (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995), já que amplia as possibilidades de acesso aos portais ultra-sonográficos, independentemente da conformação do animal. Além disso, nesta técnica podem-se realizar ajustes no trajeto da agulha para corrigir movimentações do animal ou erros iniciais de trajetória (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). Em contrapartida, o uso dos guias diminui a necessidade de treinamento (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995), mas restringe as possibilidades de manobra do instrumento de biópsia. Esta rigidez imposta pelo acoplamento da agulha ao transdutor pode ainda resultar na laceração profunda de estruturas durante a movimentação súbita do animal ou em virtude de respirações muito profundas. Entretanto, o emprego dos guias é particularmente recomendável quando há necessidade de localização precisa da agulha ou quando a necessidade de ajustes de trajetória é mínima (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

Em bovinos a técnica é realizada com o animal em estação e sob leve sedação. Após anti-sepsia e anestesia local, uma agulha descartável de biópsia é introduzida na cavidade através uma pequena incisão. As biópsias são realizadas nas regiões onde as lesões são melhor visualizadas através da ultra-sonografia, sempre com o cuidado de evitar o direcionamento da agulha sobre os grandes vasos sanguíneos e vesícula biliar (Braun, 1996). As biópsias guiadas por ultra-sonografia têm sido usualmente

empregadas em bovinos nos casos de doenças hepáticas difusas, como doença do fígado gordo, cirrose e congestão hepática (Braun et al., 1996; Braun et al., 1999). Porém também existem relatos de diagnóstico de lesões neoplásicas hepáticas focais nesta espécie (Braun et al., 2005).

Entre os ovinos a técnica guiada por ultrasonografia foi descrita em um animal portador de adenocarcinoma hepático. Após infiltração anestésica, uma agulha Tru-cut (14G X 15cm) foi introduzida no 8º espaço intercostal no nível da porção baixa da fossa paralombar direita, e guiada por imagens produzidas por um transdutor setorial de 3,5MHz. O animal apresentava anorexia, depressão, perda de peso, aumento de bilirrubina e de gama glutamil transferase e havia múltiplos pontos ecogênicos, com leve sombra acústica distribuídos pelo parênquima hepático (Lofstedt et al., 1988).

Apesar do uso da ultra-sonografia minimizar os riscos inerentes das biópsias percutâneas (Barr, 1995), o método não é isento de complicações. Estudos retrospectivos em cães e gatos (117 biópsias) apontaram a ruptura de ductos biliares em 1,7% dos animais e hemorragia no período imediato em cerca de 6% dos animais biopsiados (Léveillé et al., 1993). Em outro trabalho (254 biópsias), também realizado em cães e gatos, verificou-se a ocorrência de hemorragia com necessidade de terapia de suporte em cerca de 3,5% dos pacientes. Nestes animais houve correlação significativa destas complicações com a ocorrência de trombocitopenia e de anemia (Bigge et al., 2001).

c. Outros procedimentos guiados por ultrasonografia

De maneira similar, a portocentese guiada por ultrasonografia em bovinos estabelecida a partir do estudo de Lechtenberg et al. (1989), representa uma alternativa segura e prática aos métodos convencionais de laparotomia (Braun et al., 2000). Envolve a

preparação padrão da área (Braun, 1990), sedação com xilazina na dose de 0,05mg/kg, anestesia local com 10ml de lidocaína a 2% no ponto determinado pelo exame ultrasonográfico, geralmente localizado ao longo do 11º espaço intercostal (Braun et al., 2000). Definido o local de punção, um “cateter de teflon” (13.3cm X 2.1mm) é direcionado através de uma pequena incisão e introduzido na veia porta. A localização do cateter pode ser monitorada pela injeção de ar (Lechtenberg et al., 1989) ou rápida injeção de solução salina (Braun et al., 2000). A introdução de uma sonda de polietileno através do cateter diminui as chances de se desfazer a cateterização durante a movimentação do animal (Lechtenberg et al., 1989). Este procedimento é utilizado em regime experimental basicamente para a aferição dos componentes do sangue portal, sobretudo em estudos de absorção de nutrientes (Lechtenberg et al., 1989; Braun et al., 2000) e disfunção hepática (Lechtenberg et al., 1989).

A realização da punção de vesícula biliar, por sua vez, inicia-se com a localização da vesícula biliar, mediada por movimentos dorso-ventrais do transdutor sobre o 11º espaço intercostal. Após preparação rotineira do paciente que consiste de contenção, antissepsia, anestesia local e incisão da pele, um cateter de “teflon” de calibre 14X14cm é avançado através da parede da vesícula biliar. Após a retirada do estilete podem ser retirados o volume de até 10ml de bile. Agulhas de calibre 20 X 8.8cm também podem ser utilizadas (Braun, 1990; Braun e Geber, 1992).

2.1.4. Biópsias hepáticas por laparoscopia

A partir da introdução da endoscopia na prática veterinária no início da década de 1970, seu uso tem sido intensificado nas décadas subsequentes à medida que se tornaram notórias suas indicações diagnósticas e terapêuticas. Dentre os principais fatores que justificam tal

expansão, estão inclusos o caráter pouco invasivo da técnica, aliado à grande capacidade de prover imagens em alta definição e a obtenção direcionada de amostra de tecidos de vários órgãos (Jones e Gross, 1990).

No caso específico da laparoscopia para realização de biópsias hepáticas, verifica-se um acesso amplo ao fígado, vesícula biliar e outros órgãos abdominais de animais de pequeno porte. Fato que permite ao operador realizar biópsias de forma acurada em lesões focais ou difusas do parênquima, bem como em fígados com pequeno volume (Kerwin, 1995). Além disso, o emprego deste método requer curto espaço de tempo, permite a colheita de material significativo (Silva et al., 2002) e propicia a detecção precoce das hemorragias, uma das principais complicações relacionadas com as biópsias hepáticas, e a realização imediata de hemostasia por meio de compressão do local e, ou, emprego de eletrocoagulação (Costa et al., 2005). Em contrapartida, as desvantagens do método são primariamente o custo do equipamento, bem como a necessidade de treinamento específico e o acesso incompleto à exploração abdominal (Kerwin, 1995), com destaque para incapacidade de intervenção no lobo esquerdo hepático de bovinos pela via paralombar direita (Dirksen, 1993).

Dentre os tipos de biópsias hepáticas por laparoscopia descritas figuram as biópsias percutâneas (Phillippo, 1973; Bunch et al., 1985; Duarte et al., 2006), as biópsias realizadas com pinças laparoscópicas (Hidiroglou e Ivan, 1993; Silva 2002) e a ressecção de fragmento hepático monitorada por videolaparoscopia (Costa et al., 2005). No primeiro procedimento, o endoscópio é introduzido na cavidade através de uma cânula para monitorar a manipulação de agulhas (Duarte et al., 2006) ou de conjuntos trocar/cânula de biópsia (Phillippo, 1973). No segundo, são utilizados dois portais: um para a introdução do endoscópio e o outro

para a pinça laparoscópica de biópsia (Hidiroglou e Ivan, 1993). Caso haja disponibilidade de um guia para passagem da pinça de biópsia no endoscópio, apenas um portal é necessário (Silva et al., 2002). Na terceira modalidade de biópsia por laparoscopia são utilizados três portais: um para o endoscópio e os demais para passagem de um pinça e de uma tesoura. Desta forma, monitora-se a ressecção de um fragmento do bordo hepático, desde a incisão com a tesoura até a eletrocoagulação da ferida cirúrgica (Costa et al., 2005).

Em ovinos são descritas tanto a biópsia percutânea (Phillippo, 1973) como a biópsia com uso de pinça laparoscópica (Hidiroglou e Ivan, 1993). Em ambos os artigos os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e a cavidade abdominal foi insuflada com CO₂ via agulha de Veress antes da introdução dos instrumentais. No primeiro, os animais foram submetidos a anestesia geral e no segundo houve apenas sedação e realização de anestesia local. Phillippo (1973) realizou uma técnica de biópsia aspirativa, com o uso de um conjunto trocar/cânula de 6mm de diâmetro de 17cm de comprimento. Os animais foram contidos em decúbito dorsal e o endoscópio foi introduzido na cavidade, através de uma cânula posicionada 5cm cranial ao umbigo e 5cm para a direita da linha mediana. Já o aparato de biópsia foi introduzido e manipulado na região ventral do abdome sobre a superfície hepática. Por outro lado, na técnica descrita por Hidiroglou e Ivan (1993), os animais foram mantidos em decúbito esternal em uma mesa fenestrada. O primeiro conjunto trocar/cânula foi introduzido no ponto médio entre a tuberosidade ilíaca e a margem ventral do abdome, 3cm atrás da última costela, e o segundo 3cm abaixo do primeiro, para a passagem do endoscópio e da pinça de biópsia, respectivamente. As amostras foram colhidas através da manipulação da pinça nas margens hepáticas. As técnicas de biópsia por

laparoscopia descritas em ruminantes estão sintetizadas no quadro 3.

Além das complicações inerentes aos procedimentos de biópsia (Udall et al., 1952; Hughes, 1962; Duncan, 1984; Léveillé et al., 1993; Bigge et al., 2001), minimizadas pelo controle visual dos procedimentos laparoscópicos e pela possibilidade de inspeção e correção precoce de hemorragias excessivas (Costa et al., 2005), estão inclusas as complicações relacionadas com a própria abordagem laparoscópica. Neste contexto, são descritos o embolismo por ar, distúrbios ácido-base induzidos por CO₂, redução do débito pulmonar por compressão diafragmática (Kerwin, 1993), pneumotórax, perfuração de vísceras durante a introdução dos conjuntos trocar/cânula, enfisema subcutâneo (Costa et al., 2005) e introdução do endoscópio no saco omental (Phillippo, 1973; Hidiroglou e Ivan, 1993).

2.1.5. Avaliação das amostras

Nos trabalhos realizados com biópsias percutâneas o peso das amostras oscilou diretamente com o tipo e o calibre do instrumental de biópsia. Esta associação foi particularmente evidente nas biópsias aspirativas com uso de conjuntos trocar/cânula de diferentes diâmetros (Quadros 1 e 2). São descritos pesos de 20mg (Hogan et al., 1971) até 500mg (Dick, 1944) com uso de cânulas com diâmetro externo de até 6mm em ovinos. Adicionalmente, o uso de cânulas com diâmetro externo de 8mm em bovinos resultou em pesos que variaram de 0,4 (Amorim et al., 2003) a 1,9g (Seghetti e Marsh, 1953) e o emprego de cânulas com diâmetro externo de 9,5mm e 11,5mm em pesos médios respectivos de 3,8 e 5,11g (Hughes, 1962). Já a utilização de agulha de Menghini, apesar do pequeno calibre do instrumental (120X15), resultou em pesos relativamente elevados, de 0,8 a 1,2g (Braga et al., 1985). Neste estudo, porém, não há menção do número de tentativas realizadas ou da metodologia empregada para a

pesagem das amostras. Por outro lado, o peso das amostras obtidas com uso de agulhas Tru-cut variou pouco entre os estudos. Em ovinos verificaram-se pesos médios próximos a 25mg (Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996).

Da mesma forma, o peso das amostras hepáticas obtidas através da laparoscopia oscilou de acordo com o instrumental utilizado. Com o uso de biópsia aspirativa com conjunto trocar/cânula de 6mm, o peso das amostras variou de 23 a 560mg (Phillippo, 1973). Já o emprego de pinça laparoscópica de biópsia resultou em amostras com peso médio de 300mg (Hidiroglou e Ivan, 1993) (Quadro 3).

Além do peso da amostra outros fatores qualitativos podem ser empregados para a avaliação das técnicas e instrumentais de biópsia. Neste contexto, o número de espaços-porta tem norteado a representatividade da amostra em estudos de medicina humana (Vasenje et al., 2006). São descritos que as amostras são adequadas à medida que apresentem quatro ou mais espaços porta (Tostes e Bandarra, 2002; Costa et al., 2005) ou número superior a 6 espaços-porta (Vasenje et al., 2006). Em Medicina Veterinária, apesar de não haver estudos similares, o número de tratos portais (Tostes e Bandarra, 2002; Vasenje et al., 2006) e de lóbulos hepáticos (Hoppe et al., 1986; Vasenje et al., 2006) tem sido comparado entre métodos e instrumentais de biópsia.

Em estudo comparativo em caninos foi confrontada a eficiência de dois tipos de agulhas percutâneas, agulha de Menghini e Tru-cut. Verificaram-se números médios de espaços-porta próximos (10,9 e 11,5, respectivamente) e similares do ponto de vista estatístico para ambas as agulhas (Tostes e Bandarra, 2002).

Quadro 3. Síntese de técnicas de biópsia hepática guiadas por laparoscopia em ruminantes.

Autor(es)/ Espécie	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Phillippo (1973)/ ovina	Conjunto trocarte/cânula de 11mm. Teloscópio de 180°. Agulha de Veress. Trocarte/cânula de biópsia com 6mm Ø externo de acordo com Dick (1952).	1) 1º trocarte introduzido 5cm cranial ao umbigo e 5cm para a direita da linha mediana. 2) trocarte/cânula (Dick, 1952) introduzidos no abdome ventral sobre o fígado.	Anestesia geral: indução com “thiopentone sodium” (20mg/kg) e mantido com mistura de fluotano/oxigênio.	Jejum de 12 horas. Decúbito dorsal, com a cabeça angulada para baixo (10 a 15°). Abdome insuflado com CO ₂ via agulha de Veress. O trocarte de 11mm foi introduzido na direção da pelve através da incisão cirúrgica. Pelo endoscópio de 180° monitorou-se uma biópsia aspirativa. Incisões suturadas com clips de Michel.	26 ovelhas, com 50 a 70 dias de gestação. Duas tentativas em alguns animais.	Peso médio de 242 ± 23mg, (23 a 560mg). Tempo médio de 8,5 minutos.	Não menciona complicações. Houve atraso no procedimento quando o endoscópio atingiu o saco omental (15 minutos)
Hidiroglou e Ivan (1993)/ ovina	Equipamento: fonte de luz, cabo de fibra óptica, endoscópio rígido, bomba, Trocarte/cânula de 7mm Ø, trocarte/cânula de 5,5mm Ø, pinça laparoscópica de biópsia.	1) Trocarte/cânula de 7mm Ø introduzido no ponto médio entre a tuberosidade ilíaca e a margem ventral do abdome, 3cm atrás da última costela. 2) segundo trocarte/cânula introduzido 3cm abaixo do primeiro.	Sedação com acepromazina e anestesia local.	Jejum de 12 horas. Decúbito external em mesa. Endoscópio introduzido na cavidade pela cânula 1. Abdome insuflado com CO ₂ . Através do 2ª cânula, na cavidade, a pinça de biópsia foi movida sobre a periferia da órgão para retirada de um fragmento do fígado. Feridas cirúrgicas não suturadas.	Foram utilizados 16 ovinos em 8 semanas consecutivas.	Aproximadamente 300mg. Tempo de procedimento máximo de 15 minutos.	Sem complicações clínicas. Houve dificuldade nos casos em que o omento cobria a extremidade do endoscópio.
Duarte et al. (2006)/ caprina	Endoscópio, microcâmera, trocarte, cabo de fibra ótica, agulha de Veress, agulha Tru-cut 14G.	Trocarte/cânula introduzido no flanco direito, 10cm ventral aos processos transversos vertebrais. Agulha Tru-cut introduzida no 11º espaço intercostal, 10cm abaixo da coluna vertebral.	Anestesia geral: solução com 50mg/ml de éter glicérol guaiacol, 0,05mg/ml de xilazina e 1mg/ml de quetamina. Fluxo: 2ml/kg/h.	12 caprinos machos. Abdome insuflado com CO ₂ através da agulha de Veress. Endoscópio introduzido através da cânula para monitorar a biópsia com agulha Tru-cut. Desfeito o pneumoperitônio, as feridas cirúrgicas foram suturadas.	–	–	Sangramento discreto em 9 animais e moderado em 3. Diminuiu ou cessou em 3 minutos.

Por outro lado, durante a avaliação de agulhas Tru-cut e de um aparato automático de biópsia guiados por ultra-sonografia em caninos, obteve-se amostras maiores e, com base no número de lóbulos, maior qualidade das amostras para o instrumento automático (Hoppe et al., 1986). Em outro estudo em caninos,

comparou-se o número médio de espaços-porta e de lóbulos nas amostras obtidas a partir de cinco métodos de biópsia, dentre eles o uso de agulhas Tru-cut 16G e de pinça laparoscópica de biópsia (Vasanjee et al., 2006). Os números médios de espaços-porta observados foram $7,9 \pm 1,03$ e $16,8 \pm 1,43$ com o emprego da agulha Tru-cut e da pinça laparoscópica, respectivamente, e o número de lóbulos foi de $2,6 \pm 0,51$ para o uso da agulha Tru-cut e de $6,3 \pm 0,66$ para o da pinça laparoscópica de biópsia. Apesar da grande diferença numérica observada, tanto para o número de espaços-porta como para o número de lóbulos, não houve diferenças estatísticas entre os dois métodos. Como 40% das amostras obtidas com agulha Tru-cut apresentaram menos que 6 espaços-porta, os autores concluíram que os resultados histopatológicos obtidos com agulhas Tru-cut devem ser interpretados com cautela, já que podem não apresentar a quantidade de tecido adequada. Destacam ainda, que uma alternativa para aumentar a representatividade da amostra é a realização de biópsias múltiplas sobre várias áreas do órgão.

A qualidade da amostra ainda pode ser comparada entre técnicas através da ocorrência de artefatos histológicos. Ao se confrontar o efeito de esmagamento em milímetros entre as agulhas Tru-cut e a pinça laparoscópica de biópsia, verificou-se equivalência estatística entre ambas, apesar do maior valor numérico observado nas amostras obtidas com pinça laparoscópica de biópsia Clamshell ($0,2 \pm 0,03$ e $0,6 \pm 0,07$ mm, respectivamente) (Vasanjee et al., 2006). O mesmo efeito de esmagamento foi analisado

subjetivamente na reutilização de agulhas descartáveis acopláveis a aparatos automáticos. Mesmo após a reutilização por quatro vezes consecutivas, não se verificou diferenças na formação de artefatos nas amostras colhidas (Rycke et al., 1999).

Adicionalmente, existem evidências de que o tamanho ou volume da amostra tem estreita relação com a capacidade de diagnóstico das biópsias hepáticas. Este fato foi demonstrado à medida que o maior volume obtido com o uso das agulhas Tru-cut, do que com o das agulhas de Menghini, coincidiu com maior taxa de correspondência entre o resultado da biópsia e o diagnóstico obtido no exame *post mortem* (Tostes e Bandarra, 2002).

2.1.6. Alterações de patologia clínica

Não foram observadas alterações significativas na maioria dos artigos em que se estudou o efeito das biópsias hepáticas sobre os parâmetros de patologia clínica em diferentes espécies domésticas (Harvey et al., 1984; Braga et al., 1985; Silva et al., 2002; Costa et al., 2005).

Em estudo realizado em ovinos biopsiados com agulhas Tru-cut em intervalos semanais, por quatro semanas consecutivas, foram avaliados antes do início do experimento e após cada procedimento de biópsia os seguintes parâmetros: níveis séricos de arginase, aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina, creatina quinase, gama glutamil transferase (GGT), lactato desidrogenase, glicose, fósforo inorgânico, proteína total, nitrogênio uréico, potássio, cálcio, magnésio e sódio, contagem de eritrócitos, volume corpuscular médio, hematócrito e contagem de leucócitos (Harvey et al., 1984). Exceto pela neutrofilia observada a partir da 3ª semana de experimento, não houve modificações significativas dos parâmetros bioquímicos ou hematológicos. Esta modificação pontual do número de leucócitos foi atribuída ao estresse ou à resposta inflamatória localizada determinados pela realização das biópsias.

A leucocitose induzida por estresse, relacionada com a descarga de adrenalina, se caracteriza no bovino por neutrofilia com aumento do número de linfócitos e monócitos e leve eosinopenia. Já as alterações induzidas por corticóides endógenos ou exógenos em bovinos, ovinos e caprinos incluem neutrofilia madura, linfopenia, eosinopenia e monocitose (Taylor, 2000). Deve-se ter em conta, porém, os erros inerentes das metodologias utilizadas para análise. Há evidências que durante as contagens automáticas, o uso de EDTA como anticoagulante, assim como o atraso acima de 6 horas para a análise, podem promover a aglomeração de plaquetas e estes aglomerados podem ser incluídos na contagem de leucócitos. Neste caso, ao mesmo tempo em que diminui de forma artificial o número de plaquetas também superestima a contagem de leucócitos (Knoll, 2000). Os valores hematológicos de referência de ovinos estão descritos no quadro 4.

A realização de biópsias percutâneas aspirativas em bovinos com agulhas de Menghini também não produziu alterações significativas dos níveis séricos de fosfatase alcalina ou de AST. Tais níveis foram aferidos antes do início do experimento, seis e doze horas após a execução das biópsias (Braga et al., 1985). Em outro trabalho realizado em bovinos, entretanto, o emprego de biópsias percutâneas com conjunto trocar/cânula de 8mm de diâmetro resultou 24 horas depois em aumento significativo da AST, acima dos níveis de referência para a espécie (Amorim et al., 2003). Todavia, os níveis da mesma enzima apresentaram-se normais em aferições realizadas 96 horas depois das biópsias. Além disso, houve aumento significativo da concentração de proteína plasmática, acima do intervalo de normalidade da espécie. Os demais parâmetros bioquímicos GGT e fosfatase alcalina, bem como os hematológicos não oscilaram acima dos valores de referência. O incremento transitório da AST foi a

atribuído à injúria de hepatócitos causada pela biópsia e o aumento da proteína plasmática relacionado com fatores nutricionais, ao balanço hídrico e ao processo inflamatório local.

A AST não é uma enzima hepato-específica e está presente em grandes concentrações também nos miócitos. Como é uma enzima de extravazamento e apresenta-se em maiores concentrações nas mitocôndrias dos hepatócitos, o aumento dos seus níveis indica necrose ou lesão subletal de hepatócitos e de células musculares. Para diferenciar a fonte de aumento da enzima, são aferidos paralelamente os valores de creatina quinase, uma enzima músculo-específica. A principal dificuldade desta comparação é a diferença entre a meia vida de ambas as enzimas. A creatinina quinase apresenta meia vida menor do que a AST e os seus níveis podem estar normais no momento do exame, enquanto a concentração de AST pode ainda estar elevada (Thrall, 2007). Apesar da meia vida da maioria das enzimas ser de minutos ou horas (quando administradas por via endovenosa), naqueles eventos patológicos que não se resolvem imediatamente, como a intoxicação por tetracloreto de carbono, os níveis de algumas enzimas hepáticas podem persistir por alguns dias. Nos ruminantes este tipo de estudo demonstrou que a AST permanece aumentada por até 7 dias, com pico de atividade entre o segundo e terceiro dia (Meyer et al., 1995). Os intervalos de referência de componentes séricos estão dispostos no quadro 4.

A GGT, por outro lado, apresenta maior especificidade que a AST. Considerada como uma enzima de indução, ela é sintetizada por quase todos os tecidos corporais, com maior concentração nos rins, pâncreas e glândulas mamárias de ovelhas e vacas. Porém também ocorre em baixas concentrações nos hepatócitos, epitélio de ductos biliares e na mucosa intestinal. Apesar de estar presente em maiores

concentrações em outros órgãos, a maior parte da GGT sérica é oriunda do fígado. Entre os ruminantes verifica-se uma limitada faixa de normalidade da GGT, fator que garante maior sensibilidade da enzima e justifica o seu uso nestas espécies (Thrall, 2007). A aferição da concentração sérica da enzima é útil em vários distúrbios hepatobiliares de bovinos, ovinos e caprinos. Verifica-se aumento dos seus níveis em obstruções do sistema biliar (Braun et al., 1983), fasciolose (Waweru et al., 1999; Braun et al., 1983), intoxicação por esporidiesmina (Towers e Stratton, 1978; Braun et al., 1983; Morris et al., 2002), intoxicação por *Brachiaria decumbens* (Lemos et al., 1996; Lemos et al., 1998) necrose hepática, deficiência de cobalto e cetose (Braun et al., 1983). A GGT apresenta uma meia vida mais longa do que a AST (Bain, 2003). Desta forma, a curva de atividade da enzima observada na intoxicação por tetracloreto de carbono em ruminantes apresenta um pico de elevação entre o 3º e o 4º dias (Meyer et al., 1995).

A albumina representa cerca da metade do total das proteínas séricas do animal adulto (Meyer et al., 1995) e tem meia vida relativamente longa, de 7 a 10 dias (Bain,

2003). Em função desta última característica, os níveis desta proteína estão normais nas doenças hepáticas agudas, porém, podem estar diminuídos em enfermidades hepáticas crônicas. Deve-se ponderar que, apesar da albumina ser produzida exclusivamente no fígado Meyer et al., 1995), a diminuição da sua concentração não é hepato-específica e a condição de comprometimento hepático tem que ser diferenciada de outras possíveis causas, como a caquexia, hemorragia, proteinúria por doença renal, enteropatia, fasciolose, parasitismo intestinal, efusão com alto teor de proteína ou inflamação (Bain, 2003).

2.1.7. Aplicações

Ao longo dos anos as biópsias hepáticas têm sido empregadas com frequência em ovinos para estudos e investigações de diferentes naturezas. Em parte relevante dos trabalhos destaca-se seu uso na dosagem da concentração hepática de minerais, especialmente o cobre (Dick, 1944, Hogan et al., 1971; Donald et al., 1984; Van Ryssen, 1994), de vitaminas A (Anderson et al., 1962) e vitamina E (Hidiroglou e Ivan, 1993) (Quadro 5).

Quadro 4. Valores hematológicos e bioquímicos normais em ovinos

	Parâmetros	Intervalos de referência
Hematologia	Hematócrito (volume globular)%	27 a 45
	Hemácias (X10 ⁶ /µl)	9 a 15
	Leucócitos (X10 ³ /µl)	4 a 12
	Plaquetas (X10 ³ /µl)	250 a 750
Componentes sérios	Aspartato aminotransferase (AST) (U/l)	60 a 280
	Gama glutamil transferase (GGT) (U/l)	20 A 52
	Proteína total (g/dl)	6 a 7,9
	Albumina (g/dl)	2,4 a 3
	*Uréia (mg/dl)	18 a 31
	Creatinina (mg/dl)	1,2 a 1,9

Fontes: Radostits et al. (2002); * Meyer et al. (1995).

Quadro 5. Uso de biópsias para dosar minerais ou vitaminas hepáticas em ovinos.

Referência	Síntese	Método de análise	Conclusões
Dick (1944)	Primeira biópsia hepática aspirativa em ovinos. Compara a concentração hepática de cobre <i>post mortem</i> com de amostras obtidas através de biópsia.	Não menciona método de análise, mas trabalhou com amostras com peso máximo de 0,5g.	Boa correlação do cobre das amostras com fragmentos <i>post mortem</i> . Erro menor que 10% em 7 aferições.
Anderson et al. (1962)	Dosou vitamina A em amostras obtidas por biópsia de 4 pontos de fígados (<i>post mortem</i>) para verificar fidelidade do método.	Não descreve metodologia utilizada.	Houve algumas diferenças significantes entre pontos do fígado, mas não decresceu a acurácia da amostra quando comparadas com outros grupos em que não houve diferenças entre os sítios.
Hogan et al. (1971)	Avaliou a distribuição do cobre no fígado e a capacidade de dosá-lo através de biópsias aspirativas.	Método do ditiocarbamato. A quantidade de matéria seca obtida com as biópsias (0,02 a 0,12g) é muito menor do que a quantidade normalmente utilizada (0,1 a 0,2g)	Boa correlação entre a concentração média de biópsias repetidas com fragmentos <i>post mortem</i> . Concentração de cobre diferente entre o lobo direito e esquerdo apenas em animais recém nascidos.
Turner e Green (1976)	Capacidade da biópsia hepática em investigar efeitos do hexaclorobenzeno (HCB) sobre algumas enzimas hepáticas metabolizadoras de drogas.	Em parte das análises utilizou-se mensuração fluorimétrica.	Biópsia garante amostra significativa para este tipo de análise. Houve leve diferença da atividade enzimática entre lobos direito e esquerdo (10%). Atividade aumentou várias vezes sob ação da HCB.
Donald et al. (1984)	Verificou efeito das biópsias sobre a concentração de cobre hepática.	Espectroscopia de absorção atômica.	Valor de cobre das biópsias superestimou a concentração do mineral no fígado por até 5%.
Seaman et al. (1989)	Biópsias seriadas (10 em 19 meses) para avaliar efeito da ingestão crônica de <i>Echium plantagineum</i> sobre a concentração hepática de cobre.	Digestão ácida e espectrofotometria de absorção atômica	Alta concentração hepática de cobre nos animais submetidos a pastagem com grande quantidade da planta, comparado com o grupo controle.
Bang et al. (1990)	Investigou se infestação por <i>Ostertagia circumcincta</i> reduziu absorção de cobre. Verificou-se através de biópsias a concentração de cobre hepático no início do experimento.	Espectroscopia de absorção atômica. Um grama em 4 ml de mistura de ácido nítrico e perclórico.	Houve maior elevação de cobre hepático nos animais controle, quando comparado com os infestados. O aumento do PH do abomaso reduziu a absorção do mineral.
Hidroglou e Ivan (1993)	Biópsia hepática por laparoscopia por 8 semanas consecutivas em 16 animais para dosar cobre e vitamina E.	Não menciona método de análise. Amostras obtidas pesaram em torno de 300mg.	Método utilizado com sucesso para dosagem de vitamina E. Vitamina E distribuída uniformemente entre os lobos hepáticos direito, caudado e esquerdo.
Van Ryssen et al. (1994)	Verificou possível efeito protetor do zinco e molibdênio nas intoxicações por cobre. Biópsias foram utilizadas para dosar a concentração de cobre no início do experimento.	Espectrofotometria de absorção atômica.	Suplementação com molibdênio reduziu a concentração de cobre hepático. Doses de 30mg de molibdênio podem induzir deficiência de cobre.

Quadro 6. Uso de biópsias hepáticas para investigações histopatológicas de enfermidades e intoxicações em ovinos.

Referência	Metodologia	Achados histopatológicos	Conclusões
Ishmael et al. (1971)	Biópsias seriadas para estudo das alterações histológicas e histoquímicas de animais intoxicados experimentalmente com cobre.	<i>Antes da crise hemolítica:</i> tumefação de hepatócitos (H), necrose isolada de H, vacuolização e aumento de volume dos núcleos dos H, tumefação isolada ou de grupos de células de Kupffer. <i>Durante crises hemolíticas:</i> grandes e numerosos focos de H necróticos, associados a polimorfos nucleares, bilestase, vacuolização gordurosa de H.	Alterações morfológicas e histoquímicas de H e células de Kupffer foram observadas várias semanas antes das crises hemolíticas em virtude da intoxicação crônica por cobre. Necrose focal foi observada apenas durante as crises hemolíticas.
Araya et al. (1983)	Biópsias seriadas em intervalos de 30 dias para avaliar efeito da intoxicação por <i>Senecio erraticus</i> .	Hipertrofia de células de Kupffer, degeneração gordurosa e megalocitose. Lesões desapareceram 60 dias após a suspensão da administração da planta. Lesões mais severas como necrose, proliferação de ductos biliares e fibrose, não foram observadas.	O fato de não ter sido observadas lesões hepáticas mais severas, sugere que os ovinos são relativamente mais resistentes aos alcalóides pirrolizidínicos.
Harvey et al. (1984)	Biópsias seriadas (0, 2,5,8,15 e 22 dias) antes e após intoxicação com tetracloreto de carbono (0,25ml/kg).	2) Necrose centrolobular (CL) e hemorragia. 5) Perda de hepatócitos CL, mitose e alguma regeneração. 8) Reposição de hepatócitos CL, leve fibrose e mitose aparente. 15 e 22) congestão e desorganização de placas hepáticas CL, regeneração evidente. 22) aumento do número de macrófagos.	Biópsia parece ser útil para detecção ou investigação de hepatopatia.
Lofstedt et al. (1988)	Uso de biópsia guiada por ultra-sonografia para investigação de hepatopatia crônica.	Estroma formado por abundante tecido conectivo fibroso, disposto em trabéculas irregularmente ramificadas. Ácinos compostos de população uniforme de células epiteliais basiloídes.	Adenocarcinoma hepático
Seaman et al. (1989)	Biópsias seriadas (10 em 19 meses) para avaliar efeito da ingestão crônica de <i>Echium plantagineum</i>	Atribuiu-se um escore de 0 a 3 de acordo com as lesões observadas: tamanho e uniformidade celulares, fibrose portal, proliferação de ductos biliares e reação inflamatória. Escore estatisticamente superior dos animais submetidos à planta em 6 ocasiões, comparados com o grupo controle.	Apesar de não ter havido mortes, existiu evidência de danos hepáticos moderadamente severos nos animais submetidos à pastagem com grande proporção da planta.
Raposo et al. (1998)	Biópsias (48 a 72h) para monitorar lesões hepáticas causadas pela intoxicação experimental por <i>Myoporum laetum</i> .	Necrose hemorrágica periportal, vacuolização de H mediozonal e centrolobulares, leve proliferação de ductos biliares e presença de H apoptóticos.	Planta procedente do Uruguai foi menos tóxica do que as do Rio Grande do Sul, Brasil. Sugere-se variação regional da toxicidade da planta.
Kirkpatrick et al. (1999)	Biópsias seriadas (0, 42, 72 dias) para monitorar alterações morfológicas do fígado pela ingestão da forragem <i>Kochia scoparia</i> .	Não houve diferenças consistentes entre a morfologia hepática dos animais controle e daqueles que ingeriram a forragem.	<i>Kochia scoparia</i> pode ser útil como forragem para ovinos e oferece pouco risco de intoxicação. O aumento isolado da GGT, indica que a enzima é um método mais sensível do que a histopatologia.
Scherer et al. (1999)	Compara eficiência de biópsias com ovoscopia para o diagnóstico de fasciolose ovina.	<i>Animais positivos:</i> infiltrado linfocitário mononuclear, fibrose portal, intumescência celular, septação parenquimatosa e proliferação de ducto biliar. <i>Suspeitos:</i> presença de infiltrado linfocitário mononuclear e/ou intumescência celular.	Resultados de biópsia corroboram com os da ovoscopia. Alguns resultados falso-negativos foram confirmados como positivos na histopatologia.

Neste tipo de investigação a escolha dos instrumentais de biópsia utilizados sempre foi norteada pela sua capacidade de colher amostras com tamanho considerável. Entretanto, apesar do emprego de diferentes instrumentais, o procedimento não é isento de dificuldades. Além disso, esta necessidade de se obter amostras grandes tem representado algum risco para saúde dos animais experimentais (Braselton et al., 1997). Porém, atualmente, o peso necessário para avaliações de minerais tem decrescido a partir do uso de novas tecnologias de análise. Enquanto era necessário um grama de tecido fresco com os métodos de espectroscopia de absorção atômica (Bang et al., 1990) e “inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy” (ICP-AES), o método ICP-AES com nebulização ultrassônica reduziu a necessidade para apenas 5mg de matéria seca. O uso deste último método também permitiu a análise concomitante de 40 elementos com precisão similar ao do método ICP-AES padrão (Braselton et al., 1997).

A escolha da técnica de biópsia também pode ser influenciada pelo tipo de estudo a ser realizado. Os trabalhos que contrastaram a concentração de substâncias em diferentes porções do fígado, antes realizados somente após o sacrifício dos animais (Anderson et al., 1962; Hogan, 1971), atualmente podem ser realizados *in vivo*, com o advento dos métodos como a laparoscopia. O amplo acesso ao fígado permitiu que fossem realizadas análises seriadas da concentração hepática de vitamina E em ovinos sobre diferentes porções do órgão (lobos direito, caudado e esquerdo), sem que houvesse qualquer complicação clínica (Hidiroglou e Ivan, 1993).

Outros tipos de investigação incluem o uso das biópsias para realização de exames histopatológicos com vistas ao diagnóstico de enfermidades hepáticas (Lofstedt et al., 1988; Scherer et al., 1999) ou estudos de diversas intoxicações em ovinos (Turner e

Green, 1976; Araya et al., 1983; Ishmael et al., 1971) (Quadro 6).

2.2. BIÓPSIA RENAL

2.2.1. Aspectos anatômicos

Na espécie ovina os rins são lisos, com formato regularmente elíptico e superfícies dorsal e ventral convexas, com extremidades arredondadas. Seu comprimento, largura e espessura medem aproximadamente 7,5, 5 e 3cm, respectivamente (Sisson, 1986). O rim direito localiza-se normalmente entre a última costela e os três primeiros processos transversos lombares. Já o esquerdo, mais penduloso e com posição mais variável, encontra-se entre o lado esquerdo ou direito da linha mediana de acordo com repleção do rúmen e situa-se entre a 3ª e a 5ª vértebras lombares (Mitchell e Williams, 1975; Sisson, 1986). Além disso, quando o rúmen está cheio, a superfície dorsal primitiva torna-se ventro-medial e fica achatada pelo contato com o rúmen (Sisson, 1986).

2.2.2. Contra-indicações e considerações pré-biópsia

A complicação mais séria associada a qualquer tipo de biópsia percutânea (Finn-Bodner e hathcock, 1993), em particular à biópsia renal (Osborne et al., 1996) é a hemorragia excessiva. Considerando isto, as avaliações laboratoriais preliminares devem incluir o hematócrito, o número de plaquetas (Finn-Bodner e hathcock, 1993; Osborne et al., 1996; Bigge et al., 2001) e o tempo de coagulação do animal. Se necessário, outros testes de coagulação devem ser avaliados, entre eles o tempo parcial de tromboplastina e o tempo da protrombina (Finn-Bodner e hathcock, 1993; Osborne et al., 1996). Caso apresentem tendências hemorrágicas ou anemia, os pacientes não devem ser biopsiados até que a causa do distúrbio seja corrigida. É importante ressaltar que a uremia pode alterar o conteúdo dos fatores

de coagulação e a atividade e o número de plaquetas (Osborne et al., 1996).

Deve-se considerar também que a realização de biópsias em animais anúricos pode resultar na formação de coágulos na pelve renal e posterior obstrução do fluxo urinário. Como medida de controle preconiza-se verificar o grau de hidratação do animal (Osborne et al., 1996), bem como administrar soluções isotônicas durante a realização do procedimento (Jeraj et al., 1982; Osborne et al., 1996; Wisloff et al., 2003). Contra-indica-se também a realização de biópsias em animais com hidronefrose, piodronefrose ou abscessos renais. Nestes casos, apenas o uso de biópsia aspirativa com agulha fina para avaliação citológica e cultivo é recomendado.

Deve-se evitar biópsias percutâneas em animais com movimentação abdominal e torácica forçada e imprevisível, pelo risco inerente de laceração do órgão (Osborne et al., 1996). Outras contra-indicações relatadas são a ocorrência de apenas um rim funcional, dilatação ou obstrução intestinal, ascite e a presença de massas neoplásicas que potencialmente poderiam metastatizar (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Osborne et al., 1996). Todavia, estudos experimentais e observação empírica demonstraram que esta é uma complicação infreqüente em animais (Osborne et al., 1996).

É importante realizar uma completa avaliação clínica e epidemiológica do paciente, bem como, em caso de disponibilidade do equipamento, executar exames radiográficos (Osborne et al., 1996) e ultra-sonográficos prévios (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Osborne et al., 1996), para confirmar lesões, localizar lesões secundárias e detectar contra-indicações em órgãos adjacentes (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). Além disso, preconiza-se a avaliação laboratorial do sistema renal e realização de jejum de 8 horas (Osborne et al., 1996).

2.2.3. Biópsias renais percutâneas cegas e pela técnica “Keyhole”

Cerca de vinte e três anos após a primeira descrição da biópsia hepática percutânea em ovinos (Dick, 1944) foi relatado o primeiro estudo de biópsia renal em animais (Osborne et al., 1967). Neste trabalho o autor descreveu o uso de biópsia percutânea em cães e gatos com agulha de Vim-Silverman modificada por Franklin. Nos animais onde foi possível imobilizar o rim externamente, procedeu-se a biópsia cega. Naqueles em que isso não foi possível o rim foi imobilizado através de pequena incisão.

A biópsia cega é utilizada principalmente em gatos, por que ambos os rins são móveis e facilmente palpáveis (Osborne et al., 1996), ou naqueles cães cujo rim esquerdo é penduloso e passível de imobilização por palpação externa. Neste último caso, ao contrário do primeiro, há relato de dificuldades em desviar o curso da agulha da região hilar do órgão (Osborne, 1971). Nos rins não palpáveis ou quando não há disponibilidade de equipamentos, procede-se a técnica denominada “de janela” (Laufer-Amorim et al., 2002) ou “keyhole”. Neste procedimento o rim é contido através de pequena incisão e a agulha de biópsia é direcionada manualmente sobre a superfície do órgão. O rim direito apresenta localização mais cranial e é usualmente escolhido para ser biopsiado porque tem posição mais fixa do que o esquerdo (Osborne et al., 1996). Apesar da técnica “Keyhole” demandar mais tempo, ela tem sido executada com maior facilidade, com menores riscos para o paciente e com melhores resultados das amostras obtidas do que as técnicas percutâneas cegas (Osborne, 1971).

Os animais são submetidos a jejum alimentar por 8 a 12 horas. Caninos e felinos são submetidos geralmente à anestesia geral, já que nestas espécies os procedimentos locais e regionais de anestesia não produzem adequada anestesia do peritônio. A anestesia favorece a contenção do rim e evita a

ocorrência de movimentações súbitas (Jeraj et al., 1982; Osborne et al., 1996).

Nas biópsias cegas, após preparação cirúrgica da parede abdominal, o rim é contido por palpação digital e uma agulha é introduzida até a cavidade peritoneal através de uma pequena incisão na pele. Em seguida, a agulha é dirigida contra a cápsula renal, com seu eixo desviado do hilo e da pelve renais. O avanço da agulha não deve ser excessivo para não comprometer a quantidade de tecido cortical da amostra (Osborne et al., 1996). Na técnica “Keyhole” é realizada uma incisão oblíqua na fossa paralombar do tamanho suficiente para acomodar o dedo indicador, com início logo abaixo dos músculos lombares e com direção em linha equidistante entre a 13ª costela e o processo espinhoso das vértebras lombares. Em seguida, os músculos e fascias são dissecados e o rim é palpado e fixado com o dedo. A agulha é introduzida na cavidade, através de pequena incisão separada de acordo com a localização do rim, e guiada com dedo indicador sobre a superfície renal (Osborne, 1971). Após a introdução da agulha na cápsula, de forma a evitar os vasos do hilo e a pelve renais, a biópsia é conduzida de acordo com o tipo de agulha utilizada (Osborne et al., 1996).

A metodologia para realização de biópsias renais percutâneas cegas em animais de grande porte foi determinada em 1968 (Osborne et al., 1968). Através do uso de agulhas de Vim-Silverman modificada por Franklin, o rins esquerdos de vacas e de um cavalo foram biopsiados percutaneamente à medida que um auxiliar fixava o órgão por via retal. Após anestesia epidural caudal, o rim esquerdo das vacas foi contido contra a fossa paralombar direita. Determinada a posição do rim, a agulha foi introduzida na cavidade. Depois de palpar a agulha com a mão livre e reposicionar o rim na fossa paralombar, a agulha foi guiada para a superfície do órgão. Então, o eixo longo da agulha foi desviado do hilo renal. Seguiu-se

a manipulação padrão da agulha Vim-Silverman modificada por Franklin, com o cuidado de não ultrapassar a extensão renal.

Nos pequenos ruminantes existem poucos relatos sobre as biópsias renais percutâneas cegas. Em caprinos, 300 animais foram biopsiados percutaneamente com agulha de Vim-Silverman. O rim direito foi palpado externamente e fixado ao mesmo tempo que se procedia a biópsia (Altman et al., 1970). Em ovinos, apesar das tentativas de se realizar biópsias renais percutâneas, não foi possível se obter amostras adequadas de forma consistente. Atribuiu-se a este fato a grande variabilidade da posição dos rins. Os detalhes da técnica empregada e dos tipos de agulhas utilizadas não foram descritos (Mitchell e Williams, 1975). Em outro estudo, após a cirurgia de translocação de ambos os rins para o tecido subcutâneo, foram realizadas biópsias percutâneas seriadas para estudo de farmacocinética em ovinos (Brow e Baird, 1988) (Quadro 7).

As complicações observadas nas biópsias percutâneas renais são inversamente proporcionais à experiência do operador. Vários graus de danos por isquemia ou infarto podem ocorrer secundariamente às injúrias vasculares e produzir danos maiores do que aqueles restritos ao trato da biópsia. A severidade da lesão dependerá do número e do tamanho dos vasos lesados (Osborne et al., 1996). Estudos em felinos demonstraram que houve relação direta entre a ocorrência de danos severos ao tecido renal com a presença de vasos sanguíneos e de tecido medular nas amostras. Nos casos mais graves verificam-se infartos corticais em forma de cunha, trombose e grandes áreas de infarto. Em função disto, preconiza-se restringir o trajeto da biópsia, o máximo possível, à região cortical (Nash et al., 1983). Usualmente, entretanto, em casos não complicados, as lesões podem ser pouco visíveis, distinguíveis apenas como leves depressões na superfície do órgão (Osborne et al., 1968) e como fibroses lineares na

superfície de corte (Osborne et al., 1968; Brow e Baird, 1988).

A hematúria é um achado comumente observado após a realização de biópsias renais (Osborne et al., 1996). As microscópicas são relatadas em diversos estudos em algumas espécies animais; caninos (Osborne et al., 1967; Osborne, 1971; Osborne et al., 1996), felinos (Nash et al., 1983; Nash et al., 1986), bovinos (Osborne et al., 1968) e ovinos (Brow e Baird, 1988) (quadro 7). São usualmente auto-limitantes e ocorrem por 12 horas a três dias em quase todos os animais. A ocorrência da hematúria macroscópica é descrita em um número restrito de animais (cerca de 3% em cães), mas também apresenta caráter auto-limitante. Já as hemorragias, que cursam com a formação de coágulos, obstrução da pelve renal, ureteres ou bexiga, ocorrem de forma incomum entre caninos (Osborne et al., 1996). Dentre os outros tipos de hemorragia observados estão inclusos os hematomas perirenais (Osborne et al., 1968; Nash et al., 1983), as hemorragias intra-renais e as lacerações de grandes vasos renais (Osborne et al., 1968). Além disso, são descritas laceração de ureter, danos a órgãos adjacentes, infecção e formação de fístulas arterio-venosas intra e extra-renais (Osborne et al., 1996).

2.2.4. Biópsias renais cirúrgicas

As biópsias renais realizadas através de intervenções cirúrgicas representam uma parcela considerável dos estudos conduzidos em animais de produção. Usualmente são estudos mais antigos, realizados até a metade da década de 1970 (Quadro 7). Foram descritas em ovinos (Angus et al., 1974; Mitchell e Williams, (1975), bovinos (Garner et al., 1968) e bubalinos (Ramkumar et al., 1972). São técnicas mais laboriosas, com menor tendência à repetibilidade e com maior risco à saúde do animal do que as técnicas vigentes. As técnicas empregadas estão resumidas no quadro 7.

As principais complicações observadas incluíram a morte de um animal por peritonite localizada (Ramkumar et al., 1972) e a formação de aderências entre o órgão e os tecidos adjacentes (Garner et al., 1968; Ramkumar et al., 1972).

2.2.5. Biópsias renais percutâneas guiadas por ultra-sonografia

A ultra-sonografia tem sido empregada em um grande número de estudos para guiar procedimentos de biópsia renal percutânea (Hager et al., 1985; Osborne et al., 1996; Drost et al., 2000; Wisloff et al., 2003), por permitir a identificação simultânea do posicionamento dos rins, das estruturas adjacentes e do trajeto das agulhas de biópsia (Drost et al., 2000). Além disso, também permite diferenciar as estruturas anatômicas e as lesões internas dos rins com maior sensibilidade do que através de exames radiográficos (Osborne et al., 1996). Estes fatores têm favorecido a obtenção de amostras renais com alta qualidade e direcionadas sobre as lesões alvo, ao mesmo tempo em que minimizam a possibilidade de complicações inerentes (Drost et al., 2000).

Cães e gatos são submetidos à anestesia geral (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Osborne et al., 1996) ou sedação nos casos em que a anestesia geral é contra-indicada (Osborne et al., 1996). No início do procedimento os rins são escaneados em dois planos, sagital e transversal, com atenção sobre o tamanho, forma, posição e as estruturas internas. O córtex apresenta maior ecogenicidade do que a medula, que é relativamente anecóica (Osborne et al., 1996). Após acoplar ou não a agulha ao guia de biópsia e de localizar o ponto de biópsia no órgão, a agulha é introduzida na cavidade através de uma pequena incisão. A agulha não pode ser frequentemente observada até que entre em contato com a cápsula renal (Osborne et al., 1996).

Quadro 7. Resumo das técnicas de biópsia renal conduzidas em ruminantes.

Referência	Síntese	Instrumental	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações e outras observações
Ovinos							
Angus et al. (1974)	Investigação de glomerulonefrite mesangiocapilar em rebanho através de biópsias renais por laparotomia.	Material cirúrgico para laparotomia.	Anestesia geral com óxido nítrico e halotano.	Biópsia renal realizada em 19 animais com 7 a 12 semanas de idade. Fragmento em forma de cunha foi retirado através de laparotomia. Não descreve detalhes cirúrgicos.	-	-	-
Mitchell e Williams (1975)	Método cirúrgico de biópsia para estudo de glomerulonefrite em rebanho "Finnish Landrace". Testou-se sem sucesso vários tipos de agulhas para biópsias percutâneas.	1	Anestesia geral com halotano e óxido nítrico.	Incisão paracostal de aproximadamente 3cm sobre o ângulo entre os processos transversos e a última costela. Pólo caudal do rim direito imobilizado. Quatro incisões sobre a cápsula e córtex renal (quadrado de 8X4mm) na região dorso-lateral do pólo caudal do rim. Não procedeu-se a sutura da cápsula renal ou qualquer medida de hemostasia.	134 biópsias em 102 ovinos: 7 em adultos; 63 em animais de 3 meses de idade; 32 em neonatos.	-	Houve mínimas complicações no período pós-operatório. Cicatriz mínima no ponto de biópsia. Não se obteve amostras adequadas com biópsias percutâneas: grande variabilidade da posição do órgão.
Brow e Baird (1988)	Cirurgia de translocação renal e posterior realização de biópsias percutâneas seriadas para determinar concentração de gentamicina.	Agulha de biópsia Franklin Silverman.	Geral com halotano para cirurgia. Não há menção de anestesia local para biópsias percutâneas.	Translocação renal: ambos os rins deslocados através da parede abdominal até uma bolsa no tecido subcutâneo. Quarenta dias depois houve início das biópsias. Após incisão da pele e cápsula renal a agulha de biópsia foi introduzida na curvatura externa do rim.	9 biópsias seriadas. Um animal com intervalo de 2 dias; 3 com intervalos de 7 dias e 3 de 14 dias.	Geralmente 2 a 3 tentativas para obter 40mg de tecido.	Hematúria leve a moderada por 1 a 2 dias após as biópsias. Observaram-se fibroses renais lineares, atribuíveis ao procedimento de biópsia.
Bovinos							
Osborne et al. (1968)	Estudo piloto de biópsia renal percutânea com agulha de Vim-Silverman modificada por Franklin.	Instrumental: agulha de Vim-Silverman modificada por Franklin uma longa (11,25cm), curta (8,4cm) e uma Vim-Silverman padrão.	Anestesia epidural.	Animal em estação. Rim esquerdo contido por palpação retal contra a fossa paralombar direita. Cânula externa e mandril da agulha introduzidos na cavidade e na superfície do rim. Mandril retirado e substituído pelo estilete com duas lâminas cortantes. Lâminas introduzidas abruptamente no parênquima além da cânula externa. Cânula externa avançada sobre as lâminas. Segue-se a retirada do estilete com a amostra.	2 vacas: 3 biópsias consecutivas; 2 vacas: 2 consecutivas; 2 vacas: repetição com intervalo de 19 dias.	Melhor resultado com agulha longa: amostras com 0,5 a 3,5cm de comprimento.	Hematúria macro em uma vaca e microscópica por um dia em 7 vacas. Hematoma subcapsular pequeno em todas as vacas. Lesões causadas pelas biópsias: Pequenos pontos de depressão na superfície do córtex e pequena linha branca na superfície de corte. Não houve formação de aderências.

1. - = informações não mencionadas no artigo.

Continuação do Quadro 7.

Referência	Síntese	Instrumental	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações e outras observações
Bovinos							
Garner et al. (1968)	Técnica cirúrgica para obtenção de amostras hepática, renal e muscular.	Material cirúrgico para laparotomia.	Anestesia geral. Indução com gliceril guaiacol e tiopental. Atropina. Manutenção com halotano e oxido nitroso.	Decúbito lateral esquerdo. Incisão de 20cm, paralela e 10cm caudal à última costela. Outra incisão 2,5cm cranial à última. Superfície renal exposta. Incisão da cápsula e remoção de amostra triangular, seguida de aplicação de esponja absorvível com coagulante sobre a ferida.	10 garrotes. 3 biópsias renais, hepáticas e muscular foram obtidas de cada animal em intervalos de 14-21 dias.	Amostras de 5-10g.	Não houve hemorragia excessiva ou complicações nos animais. Descreve-se, porém, ocorrência moderada de aderências.
Naoi et al. (1985)	Avaliação clínica e laboratorial das biópsias seriadas de rim com agulha de Franklin-Silverman por laparoscopia.	Endoscópio rígido 45° e 10 mm de diâmetro. Agulha de Franklin-silverman mandril de 20cm/2mm de diâmetro. Agulha externa de 18,4cm e 2,5 mm de diâmetro.	Infiltração local de 10ml de lidocaína no local de introdução do trocarte/cânula e da agulha de biópsia.	10 novilhos e uma vaca. Jejum de 24h. Animal em estação. Introdução do trocarte/cânula através de incisão de 2 a 3cm na região central da fossa paralombar direita. Visualização do rim e determinação da localização do ponto de introdução da agulha. Introdução da agulha através de pequena incisão. Seguiu-se a manipulação padrão da agulha. O acesso pelo flanco esquerdo também foi utilizado. O coágulo sobre o rim foi irrigado com solução salina para posterior sutura da ferida cirúrgica. 8 animais sacrificados 30 minutos após a última biópsia.	8 novilhos 3 a 5 vezes por 15 a 41 dias. Dois animais foram submetidos uma vez e 1 duas vezes em 8 meses. Amostras obtidas em 94% das vezes.	Muitas biópsias continham apenas tecido cortical e vários continham tecido cortical em ambas extremidades e tecido cortico-medular no centro.	Sem alterações clínicas. Perfuração do intestino delgado por duas vezes e separação do peritônio da parede abdominal. Hematúria macroscópica transitória duas vezes, logo após o procedimento. Em 10 de 12 animais o sangue oculto permaneceu por 1-5 dias. Marcas de perfuração de biópsia de 2 semanas anteriores não foram observadas.
Chiesa et al. (2006)	Uso de biópsias seriadas renais (rim direito e esquerdo) por laparoscopia em estudo da farmacocinética da gentamicina.	Endoscópio rígido de 57cm, 10mm de diâmetro e 30°. Pinça de biópsia modelo Blakesley de 5mm de diâmetro e 43cm. tesoura curva serreada de 5mm e 43cm.	Sedação com acepromazina (0.025 mg/kg) e xilazina (0.005 e 0.01mg/kg) e tartarato de butorfanol (0.01 a 0.02 mg/kg IV). Infiltração local com 12 ml de lidocaína 2%.	Jejum de 24 h. Foi introduzido um portal através de incisão de 2cm na metade do espaço entre a turberosidade do coxal e a última costela. Após introdução do laparoscópio o abdome foi insuflado com CO ₂ (2 a 7mm Hg). Localizado o rim, outro portal foi introduzido, 10 cm abaixo. Primeiro a cápsula renal foi dissecada com a tesoura. Em seguida, amostras do córtex renal foram retiradas com a pinça de biópsia. O procedimento foi repetido quando a amostra não fora satisfatória. Sangramentos excessivos foram contidos com eletrocauter e/ou aplicação de grampos.	10 novilhos: 5 biópsias em 9 novilhos e 3 vezes em outro. Cada amostra foi composta de pelo menos uma tentativa e a média foi 3,5. O intervalo variou de 19 a 85 dias.	94% das biópsias foram satisfatórias para análise. peso aproximado de 100mg. 22 amostras do rim direito e 26 do esquerdo.	Houve perfuração ruminal, espessamento do omento, aderências de algumas partes da cápsula renal à superfície cortical. Aparente reação da cápsula em 3 animais, sem comprometimento do tecido cortical. Apenas em dois casos não houve necessidade de hemostasia. Um animal teve severa hemorragia e morreu 12 horas após o 3º procedimento.

Continuação do quadro 7.

Referência	Síntese	Instrumental	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações e outras observações
Caprinos							
Altman et al. (1970)	Biópsia percutânea para estudo de lesões renais do tipo cloisonné.	Agulha de Vim-Silverman.	–	O rim direito palpado externamente e fixado ao mesmo tempo em que se procedia a biópsia.	300 animais biopsiados.	–	Não mencionam ocorrência de complicações. 5 animais apresentaram lesão do tipo cloisonné.
Wisloff et al. (2003)	Biópsias percutâneas seriadas guiadas por ultra-sonografia para estudo experimental da intoxicação por <i>Narhecium ossifragum</i> .	Instrumento automático de biópsia não descartável (“Biopty-cut”) com agulha 14G descartável.	Xilazina e ketamina (IM) (0,4 e 8mg/kg respectivamente).	Sete animais biopsiados. Animais em decúbito lateral esquerdo. Ambos os rins foram biopsiados em diferentes regiões em cada tempo. Meio litro de solução de Ringer acetato durante e após o procedimento. Houve acompanhamento ultrasonográfico pós-biópsia. Animais sacrificados no 7º dia.	Um dia antes da administração, 6, 24, 48 e 72h. Duas punções em cada animal em cada tempo	Obteve amostras representativas de todos os animais	Hemorragia no tecido perirrenal, visível na ultrasonografia. Canais preenchidos por sangue e áreas necróticas relacionadas com a biópsia. Sem alterações de creatinina ou uréia séricas nos animais controles.
Bubalinos							
Ramkumar et al. (1972)	Avaliação clínica e laboratorial da técnica de biópsia renal obtida por laparotomia em búfalos.	Material cirúrgico para laparotomia.	Anestesia local (10ml de novocaína).	10 bezerras de 12 a 15 meses de idade. Em estação. Locais: 1ª biópsia: logo atrás da última costela; 2ª: perpendicular ao 2º espaço interlombar; 3ª: perpendicular ao 3º EI. Incisão de 5cm. Com o terceiro dedo da mão esquerda o rim foi elevado e imobilizado. Através de incisões na superfície renal, uma amostra em forma de cunha foi retirada com os dois primeiros dígitos.	Animais biopsiados 3 vezes em intervalos de 10 dias.	95 a 1.670mg.	Um animal morreu após a 2ª biópsia por peritonite sem comprometimento do sistema urinário. Houve leve alteração da temperatura retal em quase todos os animais. Não observou-se hematuria (micro ou macroscópica).

Durante a introdução da agulha no órgão, as amostras devem ser obtidas das áreas corticais nos pólos renais ou em planos sagitais (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). Devem ser evitadas neste processo as penetrações profundas no tecido medular e na pelve renal, bem como as lacerações dos grandes vasos localizados no hilo renal (Osborne et al., 1996). Para prevenir a lesão dos grandes vasos inter-lobares ainda pode ser utilizado um aparelho “Doppler” de fluxo colorido, que delimita mais claramente a localização destas estruturas. Considerando o risco potencial do procedimento, alguns autores preconizam apenas 2 tentativas de biópsia renal em cães e gatos (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). Após o término do procedimento os rins são escaneados para se monitorar a ocorrência de hemorragias excessivas (Osborne et al., 1996; Wisloff et al., 2003).

Entre os ruminantes existem poucos relatos a respeito das biópsias renais guiadas por ultra-sonografia. Em caprinos descreve-se o uso deste tipo de biópsia para o estudo da intoxicação pela ingestão da planta *Nartheicum ossifagum*. A técnica de biópsia seriada foi conduzida em 7 animais sem complicações significativas (Wisloff et al., 2003). Os detalhes do procedimento são descritos no quadro 7.

O auxílio da ultra-sonografia nos procedimentos de biópsia renal percutânea reduz consideravelmente os riscos de complicações (Drost et al., 2000). Todavia, a técnica não é inócua para o paciente e as complicações observadas são as mesmas descritas para biópsias percutâneas cegas. Em pequenos animais, a principal complicação observada foi a hemorragia excessiva (Léveillé et al., 1993; Bigge et al., 2001). Estudos retrospectivos em cães e gatos demonstraram a ocorrência de complicações maiores (hemorragias excessivas) em cerca de 9 (Bigge et al., 2001) e 1,4% (Léveillé et al., 1993) dos animais biopsiados (168 e 70,

respectivamente). Houve correlação significativa destas complicações com a ocorrência de trombocitopenia e anemia nos animais acometidos (Bigge et al., 2001).

2.2.6. Biópsias renais por laparoscopia

O uso da laparoscopia permite a identificação e controle visual das biópsias em ambos os rins (Chiesa et al., 2006), garante seletividade ao ponto de biópsia (Grauer et al., 1983) e favorece o controle imediato de hemorragias excessivas (Chiesa et al., 2006), a principal complicação associada à técnica. Dentre as técnicas de biópsias utilizadas em animais estão incluídos o monitoramento de biópsias percutâneas (Grauer et al., 1983; Naoi et al., 1985; Wise et al., 1989) e a colheita de amostras com pinças laparoscópicas de biópsia (Chiesa et al., 2006). Os trabalhos conduzidos a este respeito abordam os efeitos da técnica sobre os animais (Naoi et al., 1985), o seu uso no diagnóstico de enfermidades renais (Grauer et al., 1983) e a viabilidade do método em estudos de farmacocinética (Chiesa et al., 2006).

Entre os ruminantes a técnica tem sido descrita em bovinos (Naoi et al., 1985; Chiesa et al., 2006). Os procedimentos foram realizados com os animais em estação, sob efeito de sedativos e anestesia local (Chiesa et al., 2006). O acesso à cavidade foi feito através do flanco direito, através da introdução de um portal para a passagem de endoscópio rígido (Naoi et al., 1985; Chiesa et al., 2006). A partir deste procedimento Naoi et al. (1985) realizaram biópsias percutâneas com agulha Franklin-Silverman. Chiesa et al. (2006) introduziram uma tesoura para dissecação da cápsula renal, por intermédio de outro portal, e colheram posteriormente amostras renais com pinça de biópsia laparoscópica. Em ambos os estudos foram utilizadas biópsias seriadas. Os detalhes das técnicas estão dispostos no quadro 7.

Dentre as complicações observadas nestes estudos destaca-se a morte de um animal por hemorragia 12 horas após o terceiro procedimento (Chiesa et al., 2006). Houve hematuria macroscópica em dois indivíduos e microscópica na maioria dos animais produzidas pelas biópsias com agulha de Franklin-Silverman, com duração de um a cinco dias. Além disso, observaram-se a perfuração do intestino delgado (Naoi et al., 1985) e rúmen, espessamento do omento (Chiesa et al., 2006) e separação do peritônio da parede abdominal (Naoi et al., 1985). As lesões renais observadas nos pontos de biópsia restringiram-se a aderências de algumas partes da cápsula renal à superfície cortical e aparente reação da cápsula, sem comprometimento do tecido cortical (Chiesa et al., 2006).

2.2.7. Alterações de patologia clínica

As hematurias se constituem na principal alteração observada nos estudos de biópsia renal realizados nas espécies domésticas, independentemente do tipo de técnica empregada (Osborne, 1968; Grauer et al., 1983; Nash et al., 1983; Naoi et al., 1985; Rycke et al., 1999; Chiesa et al., 2006). Os principais pontos a este respeito foram discutidos nos itens 2.2.3 e 2.2.6.

Outra alteração observada em alguns estudos foi o decréscimo dos valores do hematócrito (Nash et al., 1986; Bigge et al., 2001). Ao analisar o valor do hematócrito de cães e gatos antes (48 horas) e depois (dentro de 36 horas) das biópsias hepáticas e renais, verificou-se que em 72,1% dos casos não houve modificação significativa do hematócrito ou comprometimento do estado geral do animal. Em 21,9% dos casos houve decréscimo do hematócrito superior a 10%, sem que houvesse alterações do estado geral. Já em 6% dos casos, houve alteração do estado geral e necessidade de terapia de suporte (transusão sanguínea e fluidoterapia) ou morte do paciente. Destes 6%, 3,5% foram relacionados especificamente com a realização de

biópsias renais (Bigge et al., 2001). Houve também oscilação do hematócrito em gatos biopsiados, com queda do hematócrito da maior parte dos animais no período de 24 horas pós-biópsia, mas a flutuação foi pequena e não atribuível ao procedimento (Nash et al., 1983). Resultados similares foram observados em estudo posterior, com a realização de biópsias seriadas em felinos (Nash et al., 1986). A contagem de leucócitos aumentou de forma marcante em dois dos oito gatos biopsiados, mas na necropsia não foi identificada associação de infecção com o procedimento (Nash et al., 1983). Além disso, não foram observadas alterações nos níveis de uréia e creatinina, o que demonstrou a falta de associação entre as biópsias renais com as disfunções maiores do órgão (Nash et al., 1986).

Nos estudos realizados em ruminantes domésticos, as alterações observadas incluíram hematuria, proteinúria e hemoglobínúria (Naoi et al., 1985). Não foram detectadas alterações significativas do número de hemácias, de leucócitos, ou de outros parâmetros hematológicos em bovinos biopsiados pela abordagem laparoscópica (Naoi et al., 1985) ou de bubalinos pela técnica cirúrgica (Ramkumar et al., 1972). Tampouco houve modificações consistentes do nitrogênio urêmico (Naoi et al., 1985)..

O nitrogênio urêmico (BUN) é uma das principais ferramentas disponíveis para se avaliar a função renal. O aumento desta substância é influenciado pela produção de uréia hepática e pelas taxas de filtração glomerular e de excreção de uréia extra-renal. A produção de uréia hepática aumenta à medida que se eleva o aporte protéico da dieta ou por enfermidades que cursam com hemorragia do trato digestivo superior ou com intensificação do catabolismo endógeno de proteínas. Caso a quantidade de aminoácidos disponíveis supere as necessidades do animal, esse excesso será desaminado no fígado para ser utilizado em

processos de neoglicogênese e lipogênese. As aminas resultantes dão origem à uréia. Ao reduzir a taxa de filtração glomerular observa-se também o incremento dos níveis do BUN. Dentre as principais causas deste decréscimo figuram as enfermidades que cursam com desidratação, as lesões renais e os processos obstrutivos distais do trato urinário. Além do efeito direto da menor taxa de filtração, a redução na velocidade de fluxo favorece também uma maior reabsorção da uréia (Thrall, 2007).

De maneira similar, os níveis séricos da creatinina são influenciados pelas mesmas possibilidades de alterações da taxa de filtração glomerular, sejam elas pré-renal, renal ou pós-renal. Todavia, como a creatinina é formada a partir do catabolismo da creatina muscular, a sua produção diária é relativamente constante, e não sofre influências extra-renais relacionadas com maior aporte de aminoácidos, através da dieta ou determinado por enfermidades, como ocorre com a uréia (Thrall, 2007). Os valores de referência de uréia e creatinina em ovinos estão dispostos no quadro 4.

2.2.8. Avaliação das amostras

A representatividade histológica das biópsias renais tem sido medida através do número de glomérulos contidos nas amostras em estudos realizados em humanos. Verificou-se que a presença de quatro glomérulos foi suficiente para avaliação histológica e que o aumento deste número não ampliou a precisão diagnóstica da amostra. Em adição, outros estudos apontam a necessidade de sete a dez glomérulos para a adequada avaliação histomorfológica (Laufer-Amorim et al., 2002). Apesar de não existir parâmetro semelhante na prática veterinária, alguns autores consideram adequadas as amostras que apresentam tecido medular e pelo menos cinco glomérulos (Hoppe et al., 1986; Wise et al., 1989). Para Osborne (1971), entretanto, este tipo de critério arbitrário adotado é cercado de incoerências. De acordo com o autor, as

informações contidas nas amostras de tecido não dependem diretamente do número de glomérulos. Exemplifica que em determinadas situações o diagnóstico não pode ser estabelecido mesmo com um número ilimitado de glomérulos, ao passo que em outras circunstâncias pode-se sugerir ou confirmar diagnósticos com apenas um glomérulo. Em estudo retrospectivo demonstrou-se que diagnósticos corretos podem ser realizados a partir de amostras com número reduzido de glomérulos (zero a quatro). Por fim pondera que, apesar de não haver correlação direta entre o aumento do número de glomérulos e o aumento na acurácia da técnica no diagnóstico de enfermidades, as amostras com grande número de glomérulos são úteis na avaliação da severidade de algumas doenças.

De qualquer forma, o número de glomérulos obtidos através de biópsias renais percutâneas tem sido relatado em diversos estudos de cães e gatos com o uso de técnicas e instrumentais distintos (Jeraj et al., 1982; Nash et al., 1983; Hoppe et al., 1986; Wise et al., 1989; Laufer-Amorim et al., 2002). Em biópsias percutâneas cegas ou através da técnica “keyhole” foram descritos números de glomérulos que variaram de 0 a 19 (28% de 0 a 4 e 72% de 5 a 19) (Osborne, 1971) e de 0 a >11 glomérulos (51% de 1 a 10; 47,5% > 11 e 1,5% sem glomérulos) (Jeraj et al., 1982) com o uso de agulhas Franklín-Silverman.

Em felinos as biópsias percutâneas cegas com agulhas Tru-cut resultaram em amostras com médias de glomérulos de 6,4 (Nash, 1986), 9,7 (Nash et al., 1986) e 13,8 (Nash et al., 1983). No primeiro estudo foi testada uma agulha Tru-cut com mandril mais curto, com modificações na extremidade da cânula externa. No segundo, foram realizadas biópsias seriadas, com maior cautela em manter o eixo da agulha limitado ao córtex renal do que no último estudo (Nash et al., 1983). Em outro estudo em cães, em que foi comparada a qualidade das amostras obtidas

do rim direito com a do esquerdo através da técnica “de janela” com agulha Vim tru-cut, verificou-se equivalência estatística entre o número de glomérulos obtidos (17,53 e 15,93, respectivamente), mas com maior número de amostras sem glomérulos entre as biópsias realizadas no rim esquerdo (Laufer-Amorim et al., 2002).

O uso de dispositivos automáticos com agulha de biópsia 18G guiados por ultrasonografia resultou em amostras com média de 7,5 glomérulos para o rim direito e 6,6 para o esquerdo (Rycke et al., 1999). Além disso, o uso deste tipo de dispositivo guiado por ultrasonografia foi mais eficiente em obter amostras com maior número de glomérulos do que com a técnica manual com a agulha Tru-cut (13,2 e 4, respectivamente) (Hoppe et al., 1986). Por fim, não foram observadas diferenças significativas na comparação da representatividade das amostras (presença de tecido medular e ≥ 5 glomérulos) entre as técnicas de biópsia percutânea por laparoscopia com duas variações da técnica “keyhole”. Também não foram identificadas diferenças entre as técnicas quanto à presença de tecido pélvico ou de arteríolas arciformes nas amostras (Wise et al., 1989).

Nos estudos conduzidos em bovinos, ovinos, e bubalinos não há citação de avaliações da qualidade das amostras similares. Nestes trabalhos avalia-se, sobretudo, o tamanho e o peso das amostras, já que nestas espécies os estudos são mais voltados para a dosagem de substâncias (Brow e Baird, 1988; Chiesa et al., 2006) do que para as análises histopatológicas. Entre as técnicas empregadas, os melhores resultados descritos foram obtidos com as técnicas cirúrgicas, com pesos de 5 a 10g em bovinos (Garner et al., 1968) e de 95 a 1670mg em bubalinos (Ramkumar et al., 1972). Já com o uso de pinças de biópsia Blakesley por laparoscopia verificou-se pesos da ordem de 100mg por amostra em bovinos (Chiesa et al., 2006), ao passo que nas biópsias

percutâneas com agulha Franklin-Silverman foram necessárias usualmente três tentativas para se obter pesos próximos a 40mg em ovinos (Brow e Baird, 1988). O peso obtido neste último estudo foi suficiente, entretanto para dosar gentamicina no tecido renal através do sistema automático de imunensaio de fluorescência polarizada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. BIÓPSIA HEPÁTICA

3.1.1. Animais e local

Foram utilizadas oito borregas (quatro Santa Inês e quatro Santa Inês X Texel), com idade entre seis meses e um ano e peso médio de $17,95\text{kg} \pm 2,71$. Os animais da raça Santa Inês eram oriundos de propriedade com pastagens diversas, que incluíam *Brachiaria brizantha*, *Setaria spp* e grama, situada no município de Curvelo, MG. Os animais mestiços provinham do município de Conceição do Mato Dentro, MG e eram mantidos em pastagem exclusiva de *B. decumbens*. Os grupos de ovelhas mestiças e o de ovelhas Santa Inês foram submetidos a períodos de adaptação de quinze e três dias, respectivamente. Os animais foram alocados em baias coletivas nas dependências do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG, alimentadas com capim elefante, feno de Tifton e ração comercial com 18% de proteína bruta (PB) e pesadas rotineiramente em intervalos semanais. Os animais mestiços foram vermifugados no primeiro dia e no 10º dia do período de adaptação, com ivermectina e levamisole, respectivamente. Já o grupo de ovelhas Santa Inês foi medicado no primeiro dia com produto a base albendazole. Na seqüência os animais foram vermifugados na primeira e sexta semanas de experimento com produto a base de albendazole.

3.1.2. Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento em quadrado latino (8X8), em que cada animal foi submetido, uma única vez, a todas as oito técnicas de biópsia hepática (Quadro 8), executadas com intervalos consecutivos de uma semana em seqüência definida por ordem de sorteio (Quadro 9). O sorteio das técnicas que envolveram videolaparoscopia foi realizado em intervalos de 15 dias, em virtude da maior invasividade destes

procedimentos. As demais técnicas foram sorteadas de forma aleatória. Seis tratamentos consistiram do emprego de dois tipos de agulha, Menghini modificada e Tru-cut semi-automática, em biópsias percutâneas executadas às cegas, guiadas por ultra-sonografia e por videolaparoscopia. Nas outras duas técnicas, foram testados uma pinça laparoscópica de biópsia modelo Blakesley e um método de ressecção de fragmento hepático por videolaparoscopia. Em cada procedimento, as biópsias foram repetidas até se obter um fragmento de tecido com tamanho adequado para avaliação histológica. Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, sob o protocolo nº 200/2006 (CETEA-UFMG).

3.1.3. Agulhas de biópsia

Tanto as agulhas de Menghini modificadas¹ (Figura 2A e B) como as agulhas modelo Tru-cut semi-automáticas¹ (Figuras 2C e D) foram reutilizadas para cada técnica (Quadro 10) no decorrer do experimento. Para permitir a reutilização das agulhas Tru-cut semi-automáticas foi aplicada cola a base de resina epóxi² (Araldite ®) sobre a superfície de apoio da cânula externa da agulha.

3.1.4. Procedimentos de anti-sepsia e preparação dos animais para realização das técnicas de biópsia

O instrumental cirúrgico e as agulhas de biópsia percutâneas foram desinfetados em solução de glutaraldeído a 2% (Glutaron II ®)³ por 15 minutos e lavados em seguida com solução fisiológica estéril. Nos procedimentos de videolaparoscopia foram utilizadas luvas e panos de campo estéreis,

¹ Bloodline S.p.a. Via Statale 12, n. 149/A, 41036, Medolla (MO), Italy.

² Brascola LTDA. Rua Brascola, 222, CEP 09892-110, São Bernardo do Campo, SP.

³ Bioquímica Indústria Farmacêutica LTDA. Av. Tarraf, nº 2590, Jd Anice, CEP 15057-430, São José do Rio Preto, SP.

Quadro 8. Descrição das técnicas de biópsia hepática utilizadas no experimento.

Técnica	Descrição
MC	Biópsia hepática percutânea cega (C) com agulha de Menghini (M) modificada
TC	Biópsia hepática percutânea cega (C) com agulha Tru-cut (T) semi-automática
MU	Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia (U) com agulha de Menghini (M) modificada
TU	Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia (U) com agulha Tru-cut (T) semi-automática
PL	Biópsia hepática por videolaparoscopia (L) com pinça (P) laparoscópica de biópsia Blakesley
ML	Biópsia hepática percutânea por videolaparoscopia (L) com agulha de Menghini (M) modificada
TL	Biópsia hepática percutânea por videolaparoscopia (L) com agulha Tru-cut (T) semi-automática
RL	Ressecção (R) de fragmento hepático por videolaparoscopia (L)

Quadro 9. Seqüência de execução das técnicas de biópsia hepática em oito animais, com intervalos entre as técnicas de sete dias.

Animais	(B1) 1ª biópsia	(B2) 2ª biópsia	(B3) 3ª biópsia	(B4) 4ª biópsia	(B5) 5ª biópsia	(B6) 6ª biópsia	(B7) 7ª biópsia	(B8) 8ª biópsia
101	MC	RL	MU	PL	TU	TL	TC	ML
103	ML	MC	RL	MU	PL	TU	TL	TC
146	TC	ML	MC	RL	MU	PL	TU	TL
100	TL	TC	ML	MC	RL	MU	PL	TU
109	TU	TL	TC	ML	MC	RL	MU	PL
132	PL	TU	TL	TC	ML	MC	RL	MU
39	MU	PL	TU	TL	TC	ML	MC	RL
102	RL	MU	PL	TU	TL	TC	ML	MC

Quadro 10. Descrição das agulhas de biópsia utilizadas de acordo com as técnicas de biópsia.

Técnica	Quantidade	Modelo de agulha
MC	1	Agulha de aspiração para biópsia histológica (Menghini modificada) – 16G, 1,6 mm Ø e 10 cm de comprimento
TC	1	Agulha em guilhotina semi-automática para tecidos moles -14G, 2 mmØ e 20 cm de comprimento
MU	1	Agulha de aspiração para biópsia histológica (Menghini modificada) – 16G, 1,6 mm Ø e 10 cm de comprimento
TU	1	Agulha em guilhotina semi-automática para tecidos moles 14G, 2 mmØ, 20 cm de comprimento
ML	1	Agulha de aspiração para biópsia histológica (Menghini modificada) – 16G, 1,6 mm Ø e 10 cm de comprimento
TL	1	Agulha em guilhotina semi-automática para tecidos moles 14G, 2 mmØ, 20 cm de comprimento

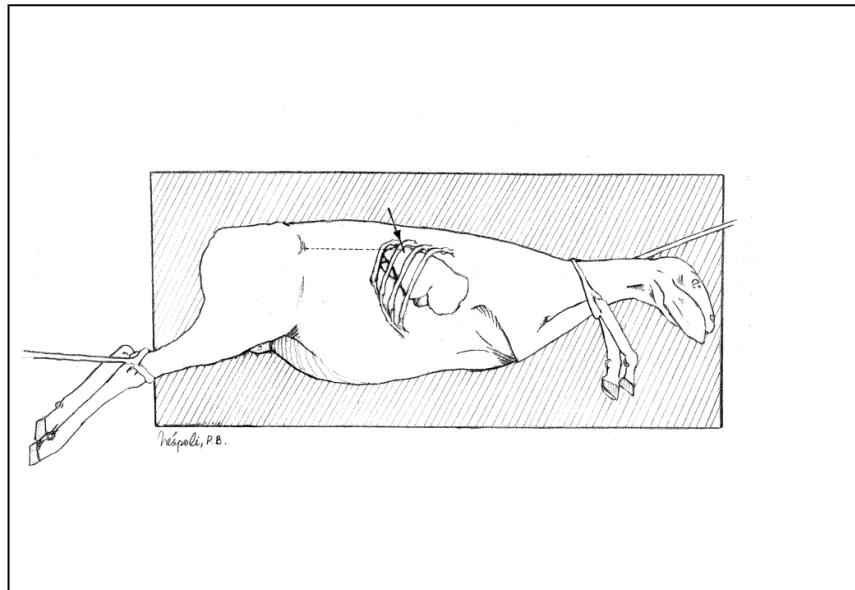


Figura 1. Posicionamento do animal e definição do local para realização das biópsias hepáticas percutâneas. Posicionamento: decúbito lateral esquerdo. Local: ponto de interseção do 11º espaço intercostal com uma linha paralela à coluna vertebral, que parte da extremidade lateral da tuberosidade ilíaca. Agulha inserida no sentido crânio-ventral (seta).

porém sem associação com o uso de capote estéril, gorro ou máscaras. Antes de cada procedimento todos os animais permaneceram em jejum alimentar por 24 horas. Após a sedação dos animais com cloridrato de xilazina a 2% (Rompum®)⁴, na dose 0,1mg/kg, e contenção em decúbito lateral esquerdo, foram realizadas tricotomia e anti-sepsia de uma área de aproximadamente 20X20cm, que compreendeu a porção cranial do flanco direito e a metade dorsal das últimas quatro costelas. No local da biópsia e nos pontos de introdução dos conjuntos trocar/cânula foram infiltrados 5ml de solução cloridrato de lidocaína a 2% (Anestésico L Pearson®)⁵.

3.1.5. Técnicas de biópsia hepática

a. Biópsia hepática percutânea cega com agulha de Menghini modificada (MC)
Uma agulha de Menghini modificada foi introduzida em sentido crânio-ventral, no 11º espaço intercostal direito, no ponto de interseção com uma linha paralela à coluna vertebral, que partia da extremidade lateral da tuberosidade ilíaca (Figuras 1 e 3A). Após ultrapassar a parede torácica e a superfície do fígado, o êmbolo da seringa foi tracionado até o ponto de acionar o mecanismo de trava da seringa (Figura 3B). Em seguida, a agulha foi introduzida no parênquima hepático, por dois a três centímetros. Nesta etapa realizou-se um movimento sutil de recuo e avanço da ponta da agulha em sentido oblíquo, com o objetivo de seccionar a base da amostra contida no interior da agulha. Findo este procedimento, a agulha foi retirada e o fragmento expelido da agulha à medida que o êmbolo da seringa foi empurrado.

b. Biópsia hepática percutânea cega com agulha Tru-cut semi-automática (TC)

Uma agulha Tru-cut semi-automática foi introduzida através de pequena incisão de pele (0,3cm) no mesmo local descrito anteriormente (Figura 3C). Uma vez que a ponta da agulha estava apoiada sobre a superfície hepática, toda a haste obturadora interna da agulha foi avançada no parênquima (Figura 3D). Em seguida, através do disparo de um dispositivo, a cânula externa da agulha avançava automaticamente sobre o entalhe da haste obturadora. Em seguida, a agulha Tru-cut semi-automática foi retirada para a manipulação do fragmento de tecido hepático.

c./ d. Biópsia hepática percutânea guiada por ultra-sonografia com agulha de Menghini modificada (MU) e com agulha Tru-cut semi-automática (TU)

Para a execução destas duas técnicas foram utilizados os mesmos procedimentos descritos anteriormente. Todavia, a introdução e manipulação das agulhas de Menghini modificada (MU) e da Tru-cut semi-automática (TU) no fígado foram acompanhadas por inspeção indireta, através de imagens ultra-sonográficas (Figuras 4A a D). Foi utilizado para tanto, um aparelho de ultra-sonografia modelo Eureka AS – 600®⁶, equipado com transdutor linear de 5MHz (Figura 5A), sem guia para a passagem da agulha de biópsia.

e. Biópsia hepática por videolaparoscopia com pinça de Blakesley (PL)

Nesta técnica foram utilizados os seguintes equipamentos: monitor colorido 14”®⁵; insuflador eletrônico⁵; unidade de controle da câmera nts⁵; fonte de luz Xenon para endoscopia⁵; cilindro de CO₂ (capacidade de 20Kg) (Figura 5B), cabeça da câmera

⁴ Bayer S.A. Fábrica de Belford Roxo. Estrada Boa Esperança, 650, CEP 26110-100, Belford Roxo, Rio de Janeiro, RJ.

⁵ Eurofarma Laboratórios LTDA. Rua Cubatão, 929, São Paulo, SP.

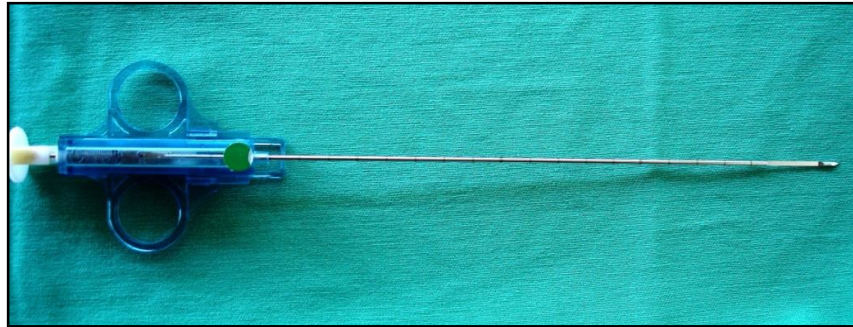
⁶ Medison Co., Ltd, Discusser & Medison Building, 1003, Daechi-dong Gangnam-gu, Seoul, 135-280, Korea.



(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 2. Agulhas utilizadas nas biópsias hepáticas percutâneas. A. Agulha de Menghini modificada acoplada à seringa descartável de 10 ml em posição de penetração na cavidade. B. Seringa com êmbolo e trava acionados, com a agulha em posição de aspiração. C. Agulha Tru-cut semi-automática com a haste obturadora interna projetada. D. Detalhe da extremidade da agulha Tru-cut.

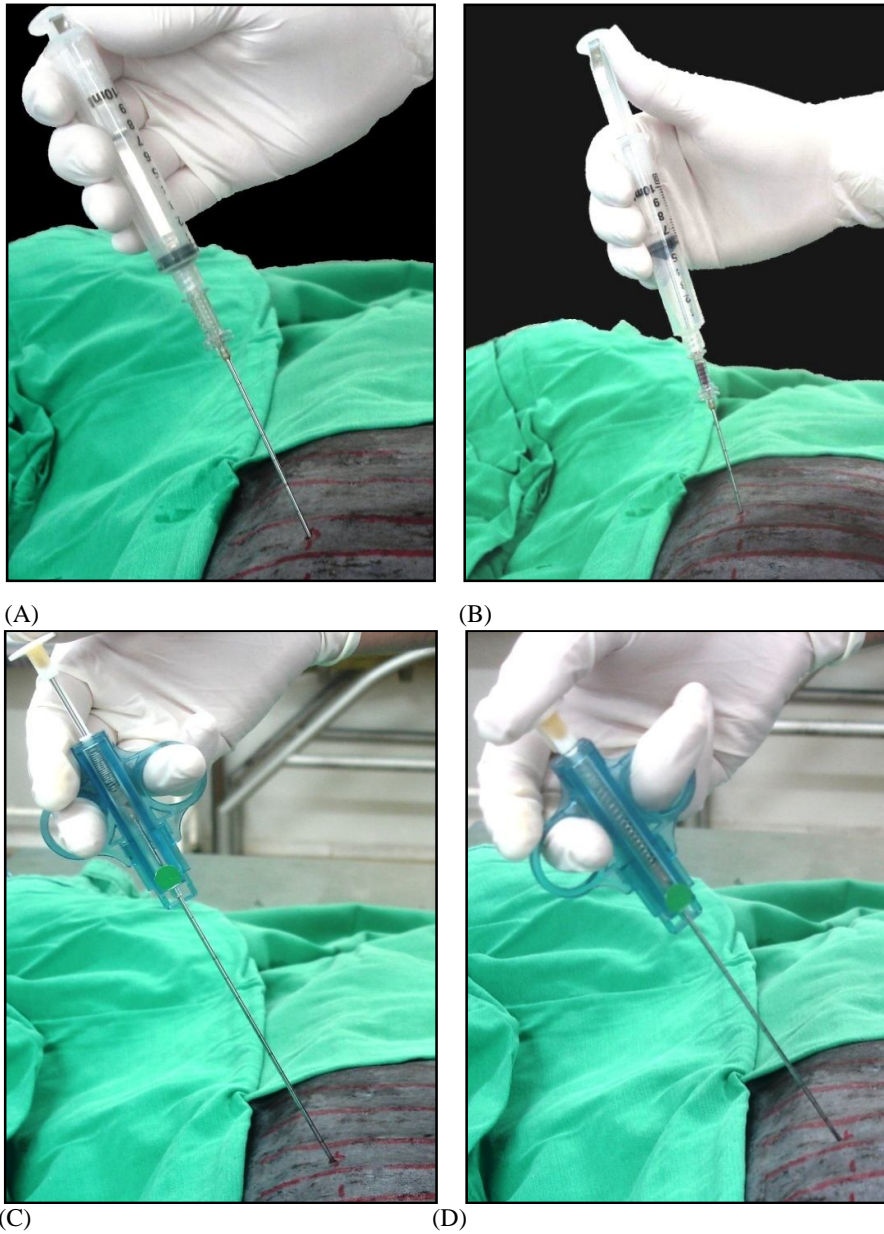


Figura 3. Execução das técnicas de biópsia hepática percutâneas conduzidas às cegas. A a B. Técnica de biópsia MC. A. Agulha introduzida na cavidade no 11º espaço intercostal. B. Êmbolo tracionado até o ponto de acionar mecanismo de trava da seringa. C e D. Técnica de biópsia TC. C. Agulha introduzida no 11º espaço intercostal, no sentido ventro-cranial com mecanismo de gatilho armado e a haste obturadora recolhida dentro da cânula externa. D. Haste obturadora exposta através de pressão do polegar até o ponto de disparo do dispositivo.

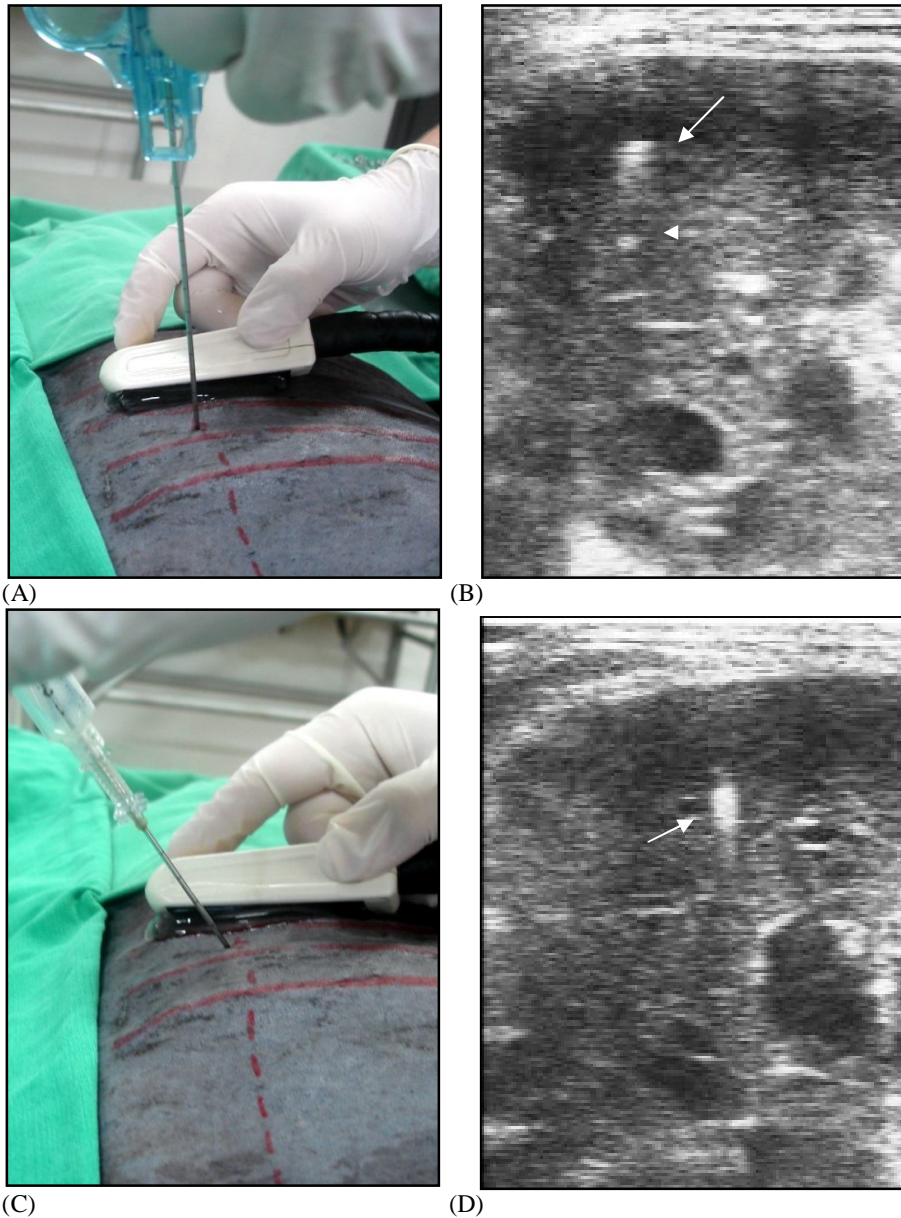


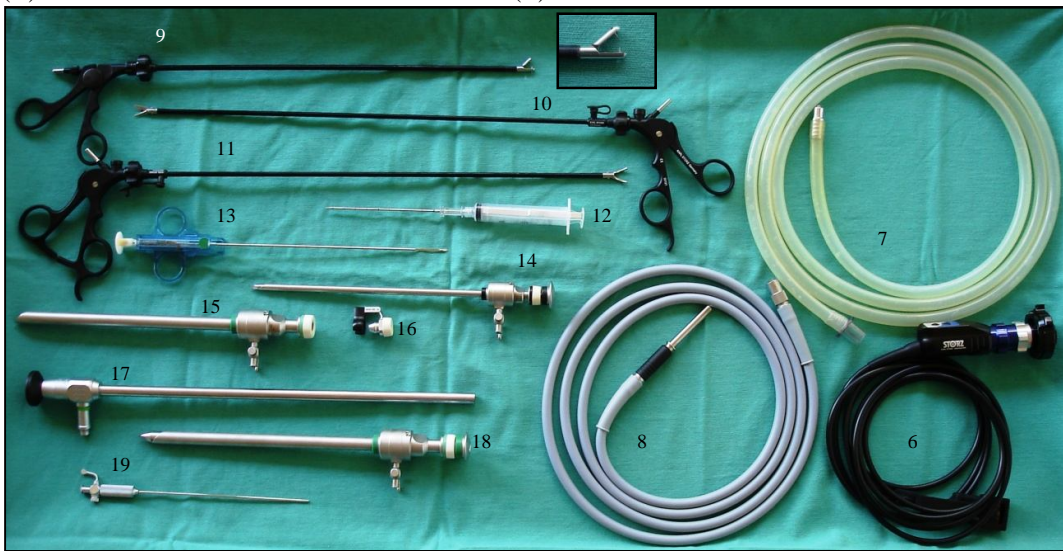
Figura 4. Execução das técnicas de biópsia hepática percutâneas guiadas por ultra-sonografia. A. Posicionamento da agulha e transdutor durante realização da técnica TU. B. Imagem ultra-sonográfica linear do fígado correspondente à figura A; demonstra dois pontos hipercóicos produzidos pela extremidade da agulha (setas). C. Posicionamento da agulha e transdutor durante realização da técnica MU. D. Imagem ultra-sonográfica linear do fígado com presença de traço hipercóico perpendicular produzido pela extremidade da agulha.



(A)



(B)



(C)

Figura 5. Equipamentos de ultra-sonografia e de videolaparoscopia e instrumentais utilizados durante o experimento. A. Aparelho de ultra-sonografia, com impressora de ultra-sonogramas e transdutor linear de 5 MHz. B. Equipamentos de videolaparoscopia: 1. monitor colorido 14"; 2. insuflador eletrônico; 3. unidade de controle da câmera ntsc; 4. fonte de luz Xenon para endoscopia; 5. cilindro de CO₂ (capacidade de 20Kg). C. Equipamentos e instrumentais para videolaparoscopia utilizados no experimento de biópsia hepática: 6. cabeça da câmera TELECAM DX, 100 – 240; 7. mangueira de silicone para insuflação; 8. cabo de fibra óptica de 3,5mm; 9. pinça de biópsia Blakesley; 10. tesoura de dissecação; 11. pinça de dissecação; 12. agulha de Menghini Modificada; 13. Agulha Tru-cut semi-automática; 14. conjunto trocarte/cânula de 6mm; 15. cânula de 11mm; 16. Redutor ; 17. endoscópio rígido Hopkins, AV 0 °, comprimento de 33cm e diâmetro de 10mm; 18. conjunto trocarte/cânula de 11mm; 19. agulha de Veress.

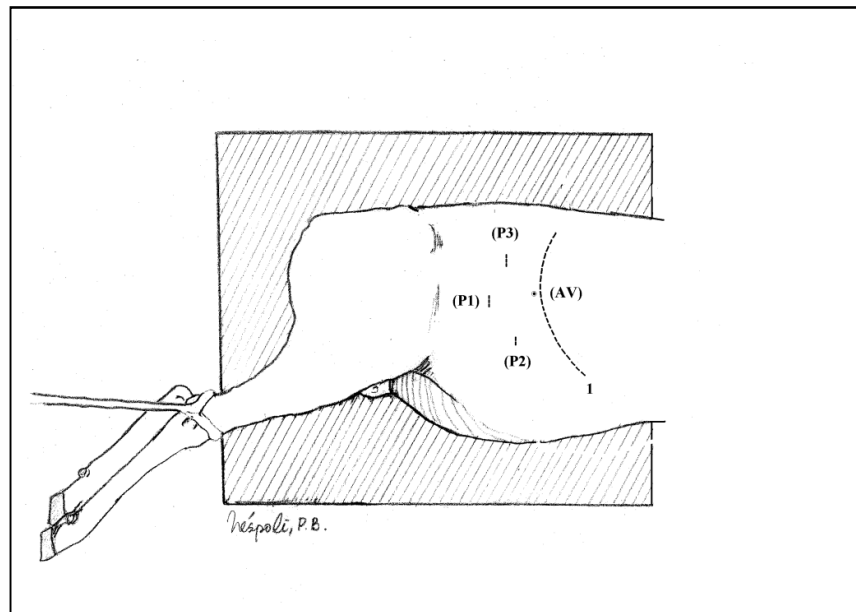


Figura 6. Local de estabelecimento dos portais para videolaparoscopia e para introdução da agulha de Veress. 1. Margem caudal do gradil costal; AV. Local para introdução da agulha de Veress; P1. Local do primeiro portal para introdução do endoscópio; P2 e P3. Segundo e terceiro portais para introdução de instrumentais.

TELECAM DX, 100 – 240⁵, mangueira de silicone para insuflação⁵, cabo de fibra óptica de 3,5mm⁵, pinça laparoscópica de biópsia Blakesley⁵; conjunto trocarte/cânula de 6mm⁵, conjunto trocarte/cânula de 11mm⁵, um endoscópio rígido Hopkins⁷, AV 0 °, comprimento de 33cm, diâmetro de 10mm e agulha de Veress⁵ (Figura 5C).

Após a preparação do animal como descrito e colocação de panos de campo, foi realizada a infiltração local com 5ml de lidocaína no ponto médio entre a coluna vertebral e a superfície ventral do abdome, cerca de 12cm caudais à última costela. Uma segunda infiltração de 5ml de anestésico foi realizada abaixo e à frente da primeira, cerca de 10 e 5cm, respectivamente. Em seguida, uma agulha de Veress foi introduzida na cavidade abdominal na porção dorso-cranial do flanco direito, logo atrás da última

costela (Figura 7A). Através desta agulha o fluxo 0,5l de CO₂ foi controlado automaticamente para manter um pressão da cavidade abdominal constante em torno de 10mm de Hg. No primeiro ponto de infiltração anestésica foi realizada uma incisão de aproximadamente um centímetro, através da qual foi introduzido o conjunto trocarte/cânula de 11mm para estabelecer o portal 1 (P1) (Figuras 6, 7B, C e D). À medida que o conjunto entrou na cavidade abdominal, o trocarte foi retirado para a introdução do endoscópio e posterior visualização da superfície hepática (Figuras 8A e B). Um segundo portal (P2) foi estabelecido a partir da introdução de um conjunto trocarte/cânula de 6mm através de uma segunda incisão de cerca de 0,5cm (Figuras 6, 8C e D). Em seguida, a pinça de Blakesley foi introduzida na cavidade sob visualização (Figuras 8E e F) para retirada de um fragmento hepático através de movimento firme de apreensão e tração da pinça de biópsia sobre a margem hepática do

⁷ Karl Storz GmbH & Co.KG. Mittelstr, 8, 78532, Tuttlingen, Germany.

lobo direito (Figuras 9A e B). O sangramento resultante foi observado apenas no período imediato pós-biópsia. Na seqüência, todos os instrumentos foram retirados da cavidade e a pele suturada com fio de nylon 00 em pontos simples interrompidos.

f./ g. Biópsia hepática percutânea por videolaparoscopia com agulha de Menghini modificada (ML) e agulha Tru-cut semi-automática (TL)

Para a execução destas duas técnicas se repetiram os mesmos procedimentos relativos à videolaparoscopia descritos para a técnica PL. Todavia, a retirada de fragmento hepático foi mediada pelo uso de agulha de Menghini modificada na técnica ML e pela agulha Tru-cut semi-automática na técnica TL, de acordo com o procedimento descrito para as biópsias percutâneas (MC e TC, respectivamente), com a possibilidade adicional de se controlar visualmente a manipulação das agulhas (Figuras 9C e D e 9E e F, respectivamente).

h. Ressecção de fragmento hepático por videolaparoscopia (RL)

Nesta técnica foi realizada uma triangulação com três portais para a videolaparoscopia. A introdução dos dois primeiros conjuntos trocarte/cânula, um de 11mm e o outro de 6mm foi realizada de acordo com o método descrito para biópsia PL (Figuras 6 e 8A a D). Em seguida, um terceiro conjunto trocarte/cânula de 11mm foi inserido crânio-dorsalmente ao primeiro (P1) portal a uma distância similar àquela descrita para o segundo portal (P2) (Figuras 6, 10A a C). Através deste portal foi inserida uma pinça de dissecação (Figura 10D). A introdução do 2º e 3º conjuntos foi monitorada por videolaparoscopia. Após a apreensão, foi realizada uma incisão semi-circular da borda caudo-lateral do lobo direito com a tesoura cirúrgica introduzida pelo portal dois (Figura 10D), e o fragmento foi posteriormente retirado através da cânula de 11mm (Figura 11). Findo o procedimento as incisões foram

suturadas de acordo com os preceitos cirúrgicos descritos no item 3.1.5.e.

3.1.6. Histopatologia

Todos os fragmentos hepáticos obtidos em cada procedimento, independente do número de tentativas, foram fixados em um único frasco com solução de formol a 10% por 48 horas, pesados em balança de precisão (após secar em papel filtro), processados rotineiramente, incluídos em parafina, cortados a 5µm, corados pela Hematoxilina e Eosina e montados entre lâmina e lamínula para observação à microscopia óptica. As amostras foram avaliadas através da contagem dos espaços-porta e de veias centrolobulares, da qualidade da amostra, bem como pela identificação de artefatos (fragmentação da amostra, presença de hemorragia e de grupos de hepatócitos eosinofílicos).

3.1.7. Exame clínico e cuidados pós-operatórios

Foram realizados exames clínicos diários durante a fase de adaptação dos animais e no decorrer das oito semanas de experimento. O exame clínico foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Stöber (1993) e compreendeu o seguinte protocolo: avaliação do comportamento (excitabilidade, depressão, apatia, paresia, paralisia), da postura (posturas anormais e/ou anti-álgicas), da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura e ingestão de água e alimento. A intensidade dos sinais clínicos foi avaliada de forma subjetiva e expressa em cruzes: +++ acentuado; ++ moderado e + leve. Após realização dos procedimentos de biópsia, os animais foram medicados com dose única de tetraciclina (Terramicina LA®)⁸ e de flunixin meglumine (Flunamine®)² nas doses de 20mg/kg e 1,1mg/kg respectivamente.

⁸ Pfizer. Av. Monteiro Lobato, 2270, CEP 07190001, Guarulhos, SP.

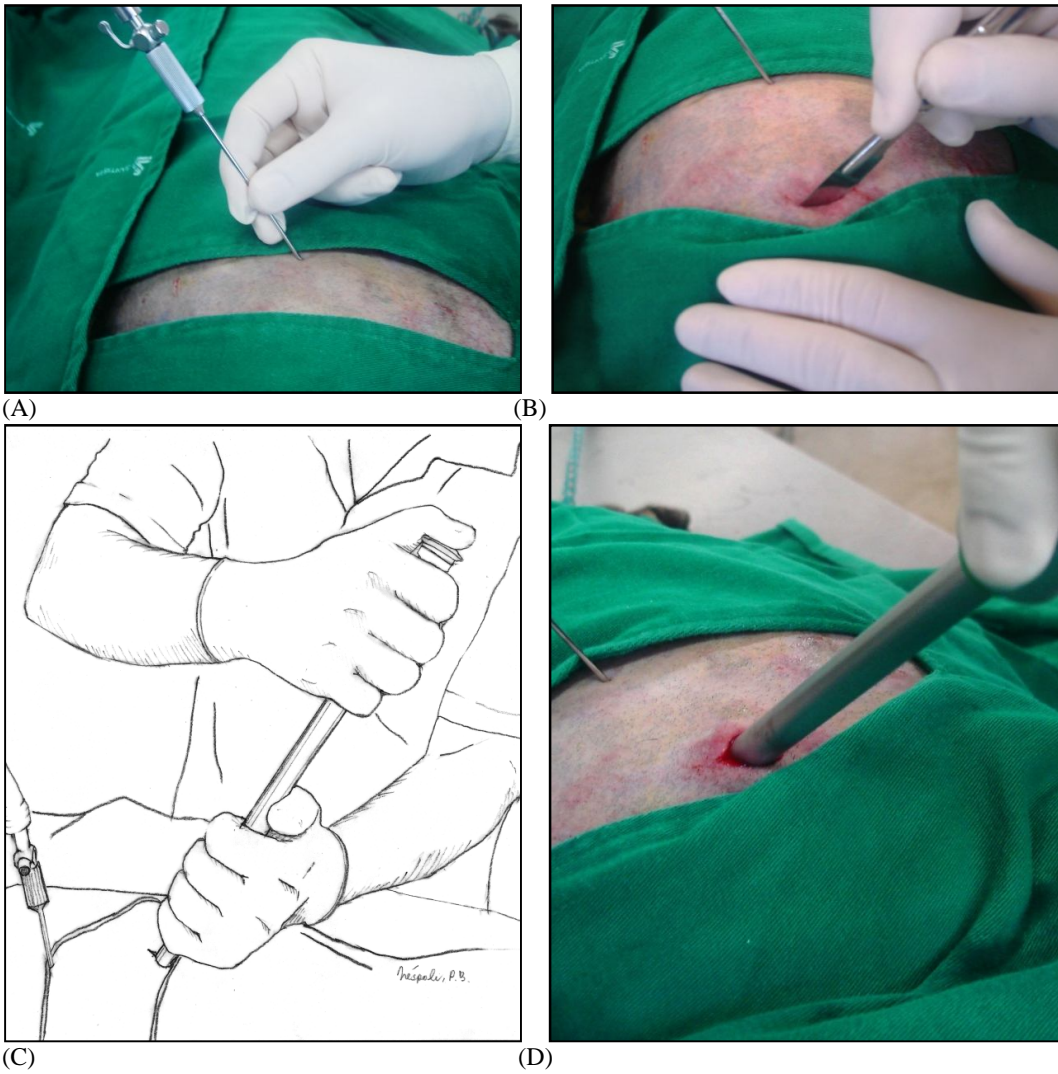


Figura 7. Procedimentos iniciais da videolaparoscopia. A. Introdução da agulha de Veress caudalmente à última costela para insuflar a cavidade abdominal com CO₂. B. Incisão de aproximadamente 1 cm na metade do abdome, cerca de 12cm caudais a última costela. C. Introdução do conjunto trocarte/cânula de 11mm de diâmetro. D. Cânula de 11mm posicionada no interior da cavidade abdominal.

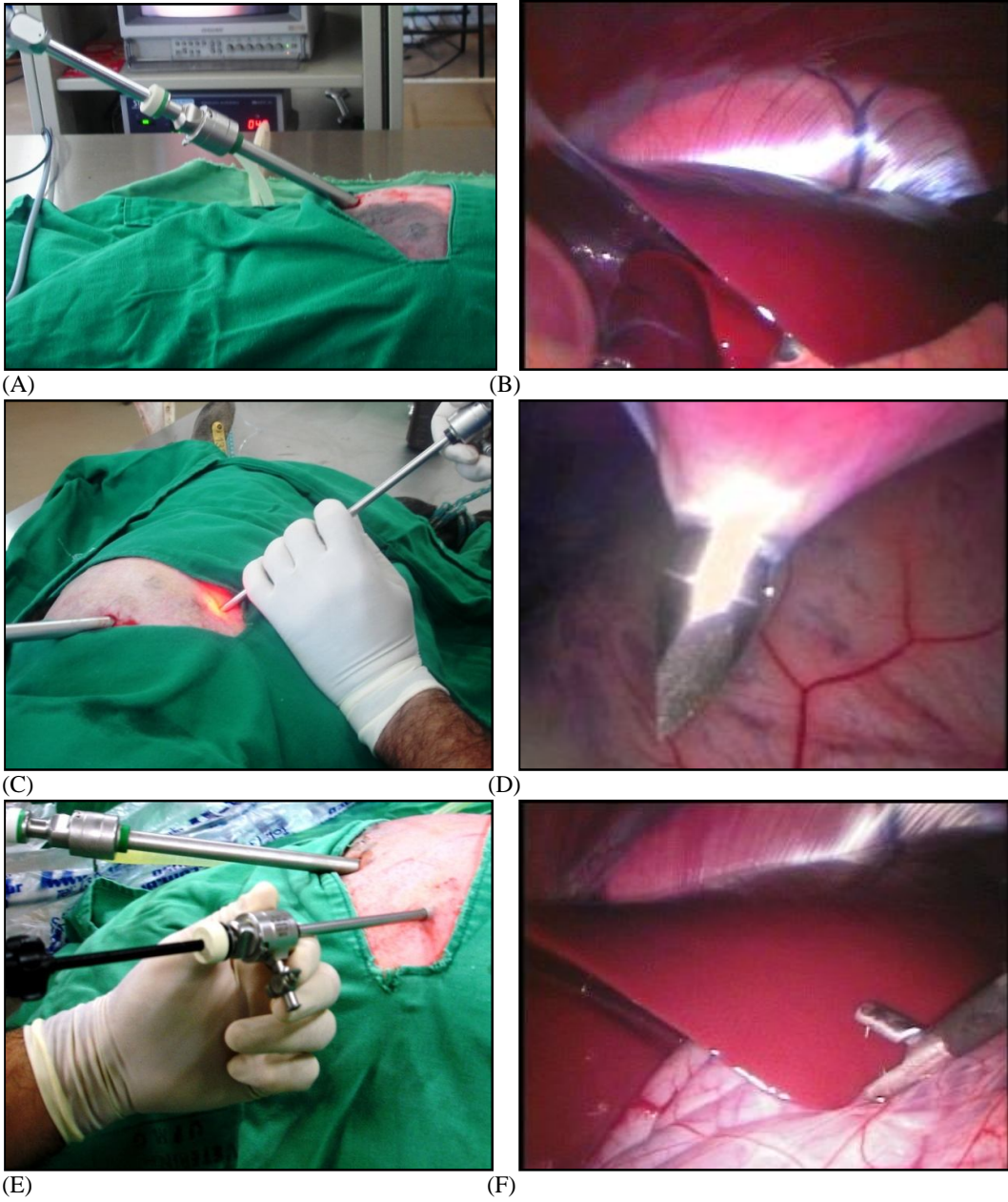


Figura 8. Visualização da cavidade abdominal e introdução do segundo conjunto trocarte/cânula durante a realização da técnica de biópsia hepática PL. A. Introdução do endoscópio rígido na cavidade abdominal. B. Imagem endoscópica da superfície hepática. C. Introdução do conjunto trocarte/cânula de 6mm de diâmetro. D. Imagem endoscópica correspondente à figura C. E. Introdução da pinça de Blakesley na cavidade abdominal. F. Imagem endoscópica correspondente à figura E.

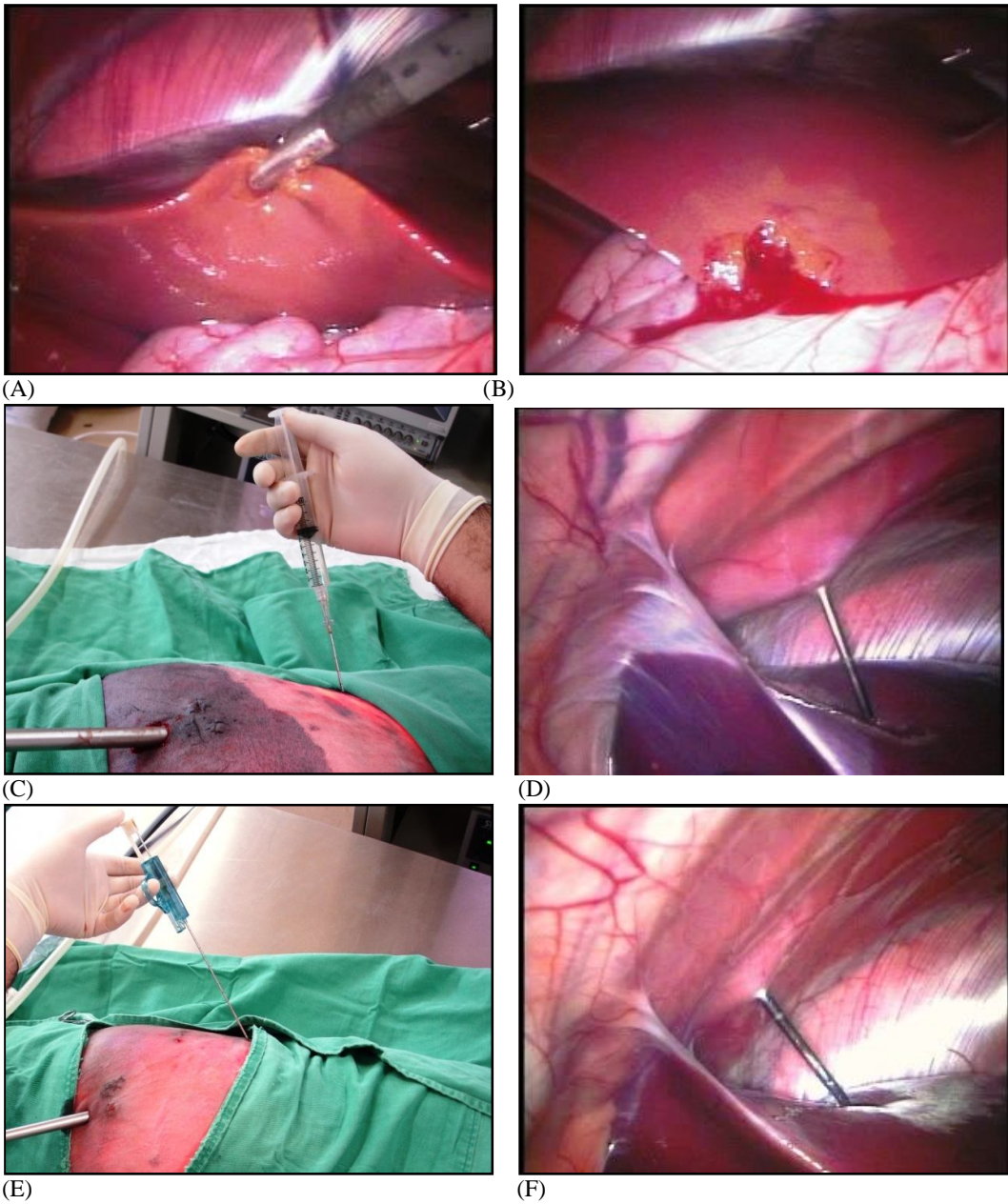


Figura 9. Etapas das técnicas de biópsia hepática PL, ML e TL. A. Apreensão e compressão do bordo do lobo hepático direito com a pinça de Blakesley. B. Lesão hepática e sangramento no local da realização da biópsia (PL). C. Introdução da agulha de Menghini modificada no fígado através do 11º espaço intercostal, acompanhada de tração do êmbolo da seringa para promover pressão negativa no interior da agulha. D. Imagem endoscópica correspondente à figura C. E. Introdução da agulha Tru-cut modificada através da incisão 11º espaço intercostal até a cavidade abdominal. F. Imagem endoscópica da agulha introduzida no parênquima hepático.



(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 10. Introdução de um terceiro conjunto trocarte/cânula e de instrumentais para realização da técnica de biópsia hepática RL. A. Incisão de 1cm, 7cm acima e 5cm à frente do local de introdução do laparoscópio rígido. B. Introdução do conjunto de 11mm. C. Imagem endoscópica da extremidade do conjunto de 11mm sobre a superfície do rim direito. D. Uso de três portais para videolaparoscopia: 1 laparoscópio rígido; 2. pinça de dissecação; 3. tesoura de dissecação.

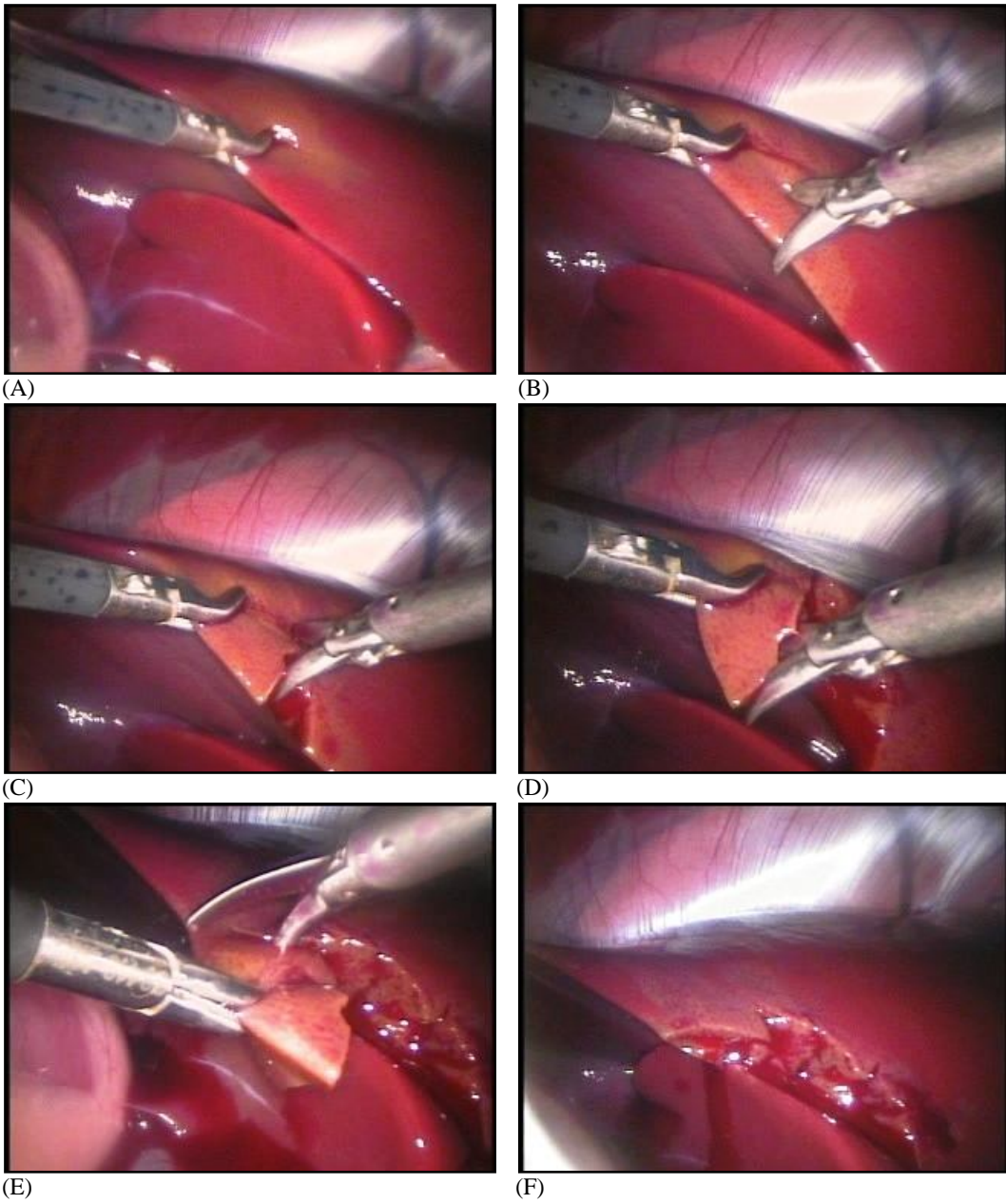


Figura 11. Etapas da técnica de biópsia hepática RL. A. Apreensão do bordo hepático com pinça de dissecação. B a E. Ressecção de fragmento hepático com tesoura de dissecação. F. Lesão hepática e sangramento no local da realização da biópsia.

3.1.8. Exames de patologia clínica

Durante o experimento foram colhidas amostras de sangue com e sem anti-coagulante de todos os animais para hematimetria e bioquímica sérica, respectivamente. A hematimetria foi realizada através de contagem automática de células com o aparelho Abacus Junior Vet⁹ um dia antes do início do experimento e seis dias depois da execução da segunda, da quinta, da sexta e da oitava biópsias. Já as análises bioquímicas foram realizadas um dia antes e três dias depois de cada procedimento através de espectrofotometria com o analisador bioquímico Cobas Mira¹⁰. Nestas análises foram aferidos os níveis de Gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), albumina e proteína total a partir do uso dos kits Synermed TM¹¹.

3.1.9. Tratamento estatístico

Os dados relacionados com o peso das amostras, o número de tentativas despendidas, o número de veias centrolobulares, o número de espaços-porta, a qualidade e a fragmentação parcial das amostras, bem como a presença de hemorragia e de grupos de hepatócitos eosinofílicos nos fragmentos hepáticos, foram submetidos à aplicação do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e as ordenações médias comparadas utilizando-se o teste de Student-Newman-Keuls (SNK), através da aplicação do programa Bioestat 4.0 (Ayres et al., 2005). A adoção de métodos não paramétricos foi norteada pela ocorrência de distribuição não normal dos pesos das amostras e pelas características discretas ou qualitativas das demais variáveis.

⁹ Diatron MI Ltd, Papírgyár, Utca 58-59, H-1038, Budapest, Hungary.

¹⁰ F Hoffmann – La Roche Ltd, Diagnosis division, Grenzacherstrasse, 124, CH- 4070, Basel, Swizerland.

¹¹ Synermed International Inc. 17435, Tiller Court, Suíte 100, Westfield, IN, USA, 46074.

3.2. BIÓPSIA RENAL

3.2.1. Animais e local

Foram utilizadas nove ovelhas (6 Santa Inês e 3 Santa Inês X Texel), com idade entre 6 e 18 meses, e peso médio de 26,64 kg \pm 4,86. Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 15 dias, alocados em baias coletivas nas dependências do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. Foram alimentados com capim elefante, feno de Tifton e ração comercial com 18% de PB, vermifugados com produto a base de albendazole no período de adaptação e pesados rotineiramente em intervalos semanais. Após a conclusão do experimento os animais foram submetidos à eutanásia através do método de deslocamento cervical, de acordo com protocolo nº 122/2007, aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA-UFMG).

3.2.2. Delineamento Experimental

Foi utilizado um delineamento em quadrado latino (3x3x3), onde cada animal foi submetido a todas as três técnicas de biópsia (Quadro 11). A ordem de execução foi definida por sorteio (Quadro 12). Todas as técnicas foram realizadas sobre o rim direito, em intervalos semanais. Em cada procedimento, as biópsias foram repetidas até se obter um fragmento de tecido com tamanho adequado para avaliação histológica.

3.2.3. Agulhas de biópsia

Duas agulhas modelo Tru-cut semi-automáticas¹ utilizadas nas técnicas de biópsia hepática TC e TU foram reaproveitadas na execução das técnicas de biópsia renal TK e TU, respectivamente, e cada agulha reutilizada em todos os animais.

3.2.4. Procedimentos de anti-sepsia e preparação dos animais para realização das técnicas de biópsia

O instrumental cirúrgico e as agulhas de biópsia percutâneas foram desinfetados em solução de glutaraldeído a 2% (LM Glut 28®)¹² por 15 minutos e lavados em seguida com solução fisiológica estéril. Nos procedimentos de videolaparoscopia foram utilizadas luvas e panos de campo estéreis, porém sem associação com o uso de capote estéril, gorro ou máscaras.

Quadro 11. Descrição das técnicas de biópsia renal utilizadas no experimento.

Técnica	Descrição
TK	Biópsia renal percutânea “keyhole” (K) com agulhas Tru-cut (T) semi-automáticas
TU	Biópsia renal percutânea guiada por ultra-sonografia (U) com agulhas Tru-cut (T) semi-automáticas
PL	Biópsia renal por videolaparoscopia (L) com pinça (P) laparoscópica de biópsia Blakesley

Após jejum alimentar de 12 horas, os animais foram contidos em decúbito lateral esquerdo e medicados com cloridrato de xilazina (Rompum®)² na dose de 0,10mg/kg. Em seguida, foram realizadas tricotomia e anti-sepsia de uma área de aproximadamente 20X20cm, que compreendia a porção cranial do flanco direito e a metade dorsal das últimas quatro costelas. Além da pré-medicação com cloridrato de xilazina, foram realizadas infiltrações com 5 a 10ml cloridrato de lidocaína 2% (Anestésico L Pearson®)³ nas linhas de incisão e nos pontos de introdução das agulhas de biópsia. Durante o procedimento os animais receberam 500ml

¹² LM Farma, Rua Jaguarão, n 95, Chácaras Reunidas - SJC/SP

de solução fisiológica IV e 20mg/animal de furosemida a 1% (furosefarma®)¹³.

Quadro 12. Seqüência de execução das técnicas de biópsia renal em nove animais, com intervalos entre as técnicas de sete dias.

Animal	(B1) 1ª biópsia	(B2) 2ª biópsia	(B3) 3ª biópsia
5	TK	TU	PL
6	PL	TK	TU
2	TU	PL	TK
3	TK	PL	TU
1	TU	TK	PL
9	PL	TU	TK
7	PL	TK	TU
8	TU	PL	TK
4	TK	TU	PL

3.2.5. Técnicas de biópsia renal

a. Biópsia renal percutânea “keyhole”(TK)
Após anestesia local, foi realizada no flanco direito do animal uma incisão de aproximadamente 4cm de extensão, sobre a pele, músculos abdominais e peritônio, no sentido perpendicular ao processo transverso da terceira vértebra lombar (Figuras 12A e B). Com os dedos indicador e médio o pólo caudal do rim direito foi localizado e fixado (Figura 12 C). Na seqüência, uma agulha Tru-cut semi-automática foi introduzida na parede abdominal através de uma incisão de pele de aproximadamente 0,3cm (Figura 12D), localizada de 1 a 2cm à frente da primeira incisão (Figura 13A). Ao se detectar a agulha sobre a superfície renal, toda a haste obturadora interna da agulha foi avançada no parênquima renal (Figura 13B), com o curso do aparato limitado o máximo possível à extremidade do polo caudal do rim.

¹³ Farmace ind. Quím. Farmacêutica Cearense LTDA, Rod. Antônio Lírio Callou, km 02, Barbalha, CE.

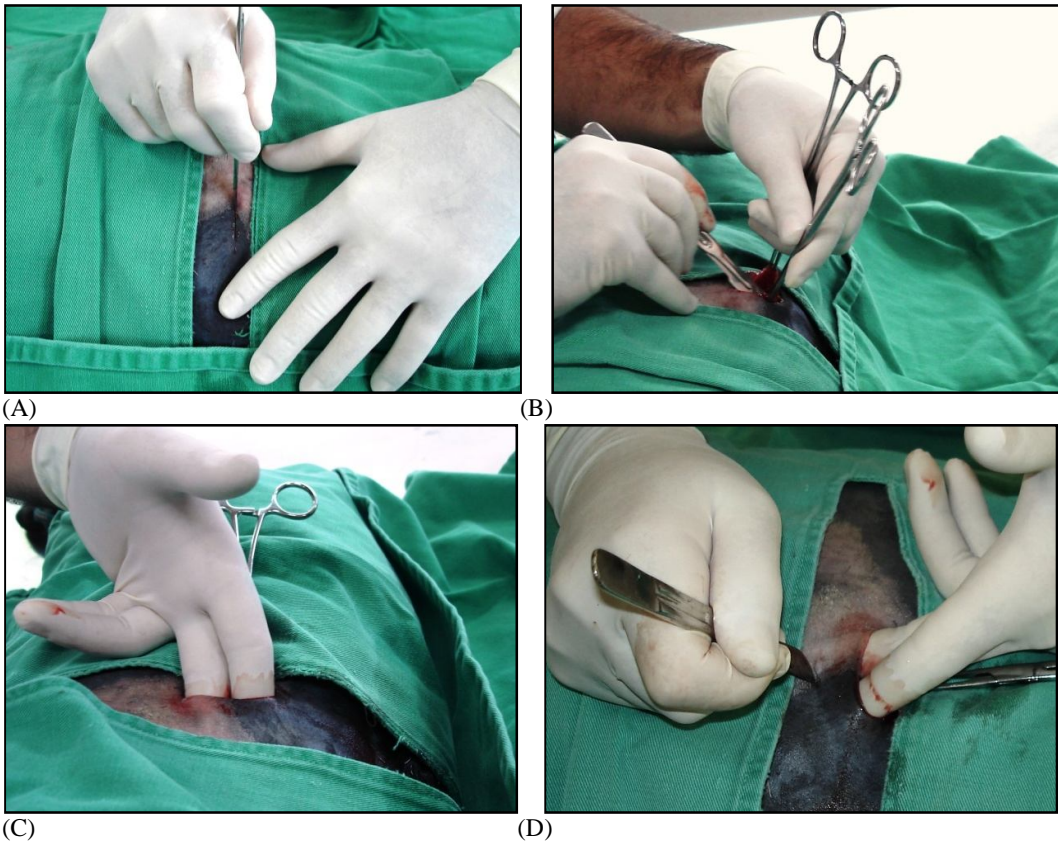


Figura 12. Etapas iniciais da técnica de biópsia renal TK. A. Incisão de aproximadamente 4cm de extensão da pele no sentido perpendicular ao processo transverso da segunda vértebra lombar. B. Dissecção de músculos abdominais e peritônio. C. Localização e fixação do rim direito com os dedos indicador e médio. D. Incisão de pele de aproximadamente 0,3cm realizada de 1 a 2cm à frente da primeira incisão.

Em seguida, ao acionar o dispositivo de disparo da agulha, a cânula externa da agulha avançou automaticamente sobre o entalhe da haste obturadora. Após a manipulação, a agulha foi retirada da cavidade abdominal e o fragmento de tecido renal recolhido do entalhe da haste. A musculatura e o peritônio foram suturados em um único plano, com fio absorvível e pontos em X e a pele foi suturada com fio de nylon 00 em pontos simples interrompidos.

b. Biópsia renal percutânea guiada por ultra-sonografia (TU)

O método de biópsia renal percutânea guiada por ultra-sonografia excluiu a necessidade de incisão no flanco do animal para contenção do pólo renal. A introdução e manipulação da agulha Tru-cut semi-automática no rim direito foi monitorada através de imagens ultra-sonográficas em tempo real (Figura 14). Foi utilizado para tanto, um aparelho de ultra-sonografia modelo Eureka AS – 600⁶, equipado com transdutor linear de 5MHz sem guia para a passagem da agulha de biópsia (Figura 5A).

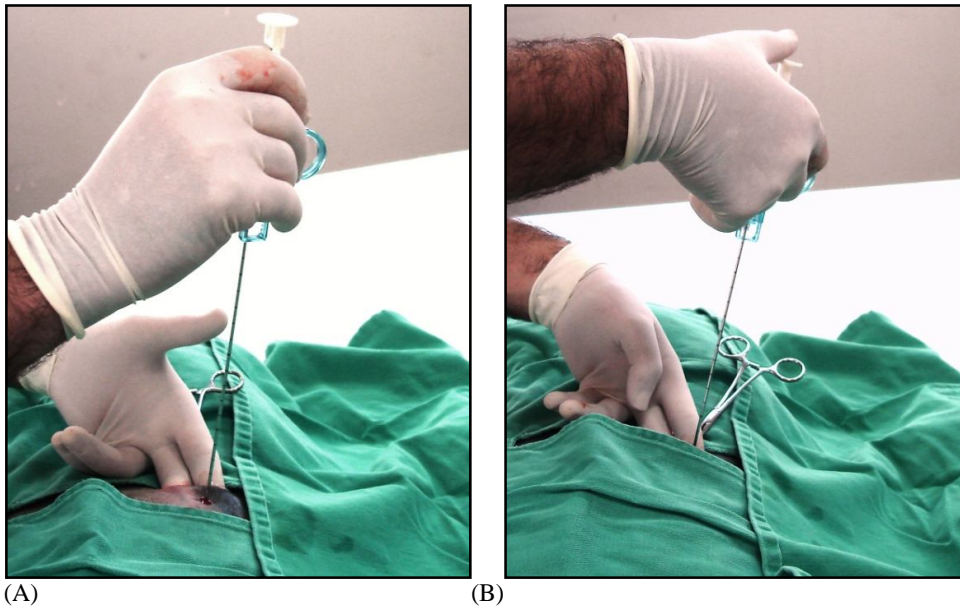


Figura 13. Continuação da seqüência da técnica de biópsia renal TK. A. Introdução da agulha Tru-cut semi-automática através da menor incisão ao mesmo tempo em que o rim direito é fixado com os dedos indicador e médio. B. Introdução da haste obturadora interna da agulha no parênquima renal e disparo do dispositivo que avança automaticamente a cânula externa.

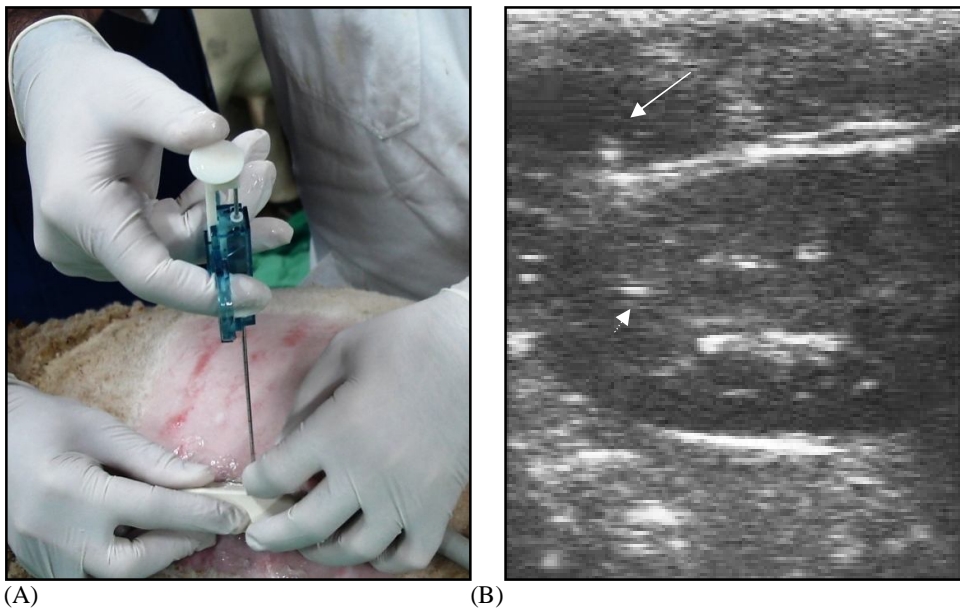


Figura 14. Execução da técnica de biópsia renal TU. A. Posicionamento da agulha e transdutor durante a realização da biópsia TU. B. Imagem ultra-sonográfica longitudinal do rim direito com presença de dois pontos hipercóicos, que correspondem à porção distal da agulha de biópsia. Um ponto sobre a cápsula renal (seta) e outro na porção interna do córtex renal (cabeça de seta).

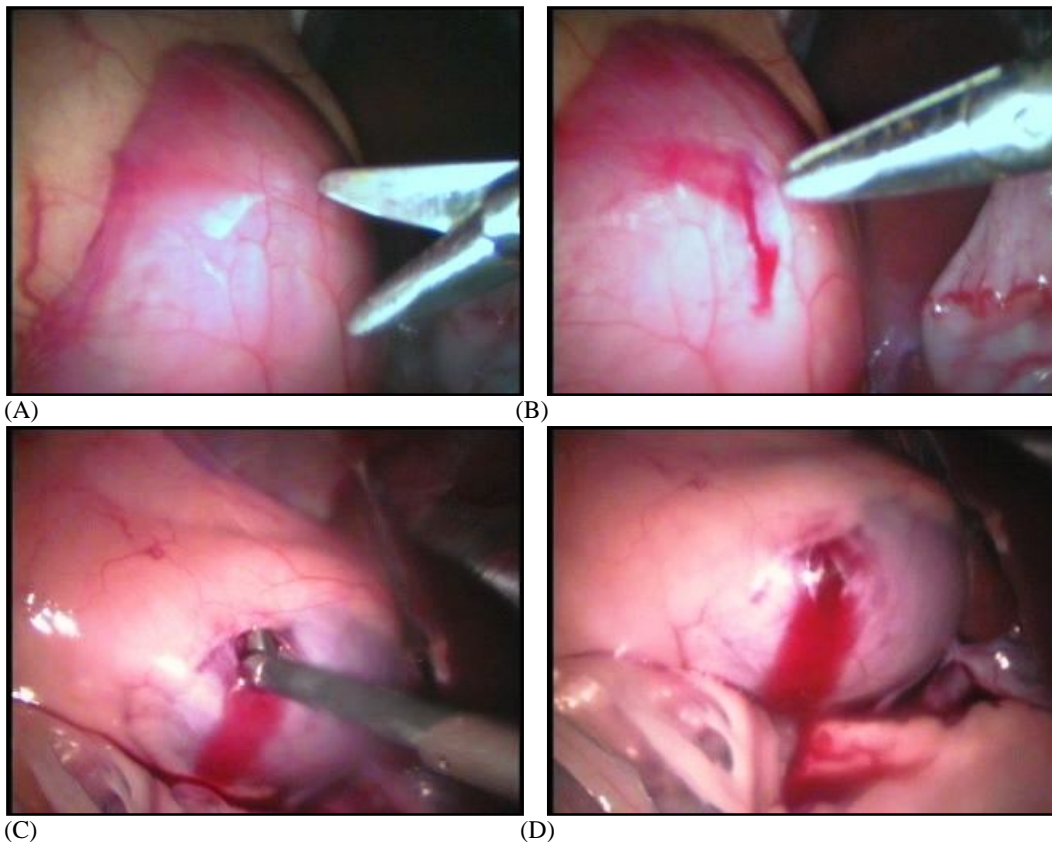


Figura 15. Seqüência de eventos da técnica de biópsia renal PL. A e B. Incisão do peritônio e cápsula renal. C. Apreensão do tecido renal com a pinça de Blakesley abaixo do peritônio. D. Lesão renal e sangramento no local da realização da biópsia.

c. Biópsia renal por videolaparoscopia com pinça de Blakesley (PL)

O instrumental e o procedimento padrão de videolaparoscopia utilizados nesta técnica correspondem àqueles descritos para a técnica PL na seção 3.1.5.e. de biópsias hepáticas (Figuras 5, 6, 7 e 8A e B).

Após introdução do endoscópio na cavidade abdominal e visualização do rim direito, um segundo conjunto trocar/cânula (6mm) foi inserido no abdome, 10cm abaixo e 5cm cranial ao endoscópio (Figuras 8C e D). Através da cânula de 6mm foi introduzida uma tesoura cirúrgica na cavidade para ser realizada uma incisão de aproximadamente 0,5cm no peritônio sobre a superfície renal (Figuras 15A e B). Na seqüência, a pinça de

Blakesley foi introduzida através desta incisão para se proceder a retirada de um fragmento do córtex renal (Figuras 15C e D).

3.2.6. Histopatologia

Os fragmentos renais obtidos através das biópsias, independente do número de tentativas realizadas, foram fixados em formol a 10% em um único recipiente, pesados em balança de precisão (após secar em papel filtro), processados rotineiramente, incluídos em parafina, cortados a 5 μ m e corados pela Hematoxilina e Eosina e examinados através de microscopia óptica. Durante a avaliação histológica foram analisadas a qualidade e a presença de artefatos nas amostras, bem como foram

aferidos o número de glomérulos, a quantidade de arteríolas arciformes e a presença de tecido medular e de epitélio de transição nos fragmentos renais.

3.2.7. Exame clínico e cuidados pós-operatórios

Foram realizados exames clínicos diários durante a fase de adaptação dos animais e no decorrer das três semanas de experimento. O exame clínico foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Stöber (1993) e compreendeu o seguinte protocolo: avaliação do comportamento (excitabilidade, depressão, apatia, paresia, paralisia), da postura (posturas anormais e/ou anti-álgicas), da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura e ingestão de água e alimento. A intensidade dos sinais clínicos foi avaliada de forma subjetiva e expressa em cruzes: +++ acentuado; ++ moderado e + leve. A ficha clínica adotada está disponível no anexo 1. No dia do procedimento os animais foram medicados com dose única de tetraciclina (Terramicina LA®)⁸ (20mg/kg) e de flunixin meglumine (Flunamine®)⁴ (1,1mg/kg).

3.2.8. Exames de patologia clínica

Durante o experimento foram colhidas amostras de sangue com e sem anti-coagulante para hematimetria e exame de uréia e creatinina, respectivamente. A hematimetria foi realizada através de contagem automática de células com o aparelho Abacus Junior Vet⁹ antes do início do experimento e seis dias após a realização de cada uma das três técnicas de biópsia avaliadas. Já os exames da uréia e creatinina foram realizados um dia antes e em três dias consecutivos após cada procedimento através de espectrofotometria com o analisador bioquímico Cobas Mira¹⁰ e do uso dos quites Synermed TM¹¹. No dia da biópsia e em dois dias subsequentes, a urina dos animais foi colhida estimulando-se o reflexo de micção através do impedimento temporário da respiração e pela administração intra-muscular de furosemida

(Furosefarma ®)¹⁴ (2ml/animal). Além da análise macroscópica, foram avaliados vários parâmetros da urina (corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina, proteína, glicose, ph, densidade, sangue e hemoglobina e leucócitos) mediante uso de fita para urinálise®¹⁵.

Naqueles animais que apresentaram hematúria, o exame foi repetido até a remissão deste sinal por dois dias consecutivos.

3.2.9. Tratamento estatístico

Os dados paramétricos relacionados ao peso das amostras foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste t de Student de acordo com Sampaio (2002). Já o número de tentativas despendidas, o número de glomérulos presentes no corte histológico, a qualidade da amostra, a fragmentação parcial e a presença de hemorragia e de tecido medular na amostra, por se tratarem de variáveis discretas ou qualitativas, foram submetidos à aplicação do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e as ordenações médias comparadas com o teste de Student-Newman-Keuls (SNK) através da aplicação do programa Bioestat 4.0 (AYRES et al., 2005).

¹⁴ Farmace Ind. Química Faramacêutica Cearense LTDA. Rod. Dr. Antônio Liro Callou, Km 02, Barabalha CE.

¹⁵ Dialab diagnósticos S/A. Av. do Contorno, 2090, sala 701/702, Floresta, CEP 30110-070, Belo Horizonte – MG.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. BIÓPSIA HEPÁTICA

4.1.1. Exame clínico

No decorrer do experimento foram observadas alterações clínicas nos animais em 10 dos 64 procedimentos realizados. Na maioria dos casos, entretanto, os achados se restringiram às elevações leves a moderadas da temperatura corporal e da frequência cardíaca nos primeiros dois dias após a realização das biópsias. Somente em quatro destes 10 procedimentos os animais manifestaram alteração do estado geral. Nestes casos, porém, os sinais clínicos observados foram de curta duração, com pronta recuperação dos animais em dois ou três dias. Três animais (39, 101 e 132) demonstraram apatia e inapetência discretas e diminuição da frequência e intensidade dos movimentos ruminais, associados ou não com taquicardia e febre. Um quarto animal (109) apresentou anorexia, abdome contraído, dor abdominal, tremores musculares, taquicardia, hipertermia e leve congestão das mucosas (Quadro 13). Em todos estes quatro casos foram utilizadas agulhas de Menghini. Em dois procedimentos a biópsia foi guiada por ultrassom (MU), em um a biópsia foi conduzida às cegas (MC) e em outro a punção foi assistida por videolaparoscopia (ML). Em dois destes procedimentos o número de tentativas foi igual ou superior a duas.

Os achados observados durante o experimento indicaram que a realização das biópsias hepáticas seriadas não foram isentas de alterações clínicas. Entretanto, mesmo com o uso de agulhas de Menghini, os distúrbios observados foram leves, transitórios e de pequeno significado para a saúde dos animais. Além disso, outro fator que demonstra o efeito limitado do procedimento sobre os animais foi o ganho de peso sistemático observado durante as primeiras cinco semanas e estabilização na

fase final do experimento (Gráfico 1). Estes resultados estão de acordo, pelo menos em parte, com os estudos de biópsia hepática em ovinos onde não foram observadas alterações clínicas (Harvey et al., 1984; Hidiroglou e Ivan, 1993) ou modificações no ganho de peso dos animais (Donald et al., 1984; Ferreira et al., 1996).

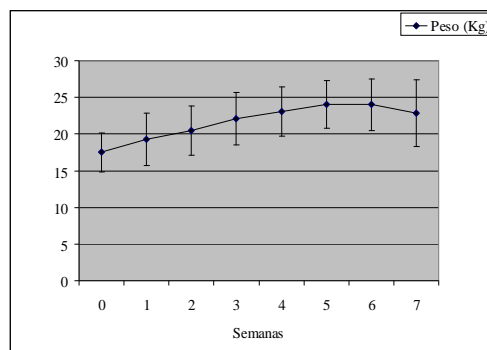


Gráfico 1. Peso médio e desvio padrão dos ovinos antes de cada procedimento de biópsia hepática.

4.1.2. Sedação e analgesia

O protocolo anestésico utilizado, baseado na sedação e anestesia local, foi similar ao empregado em outros estudos (Donald et al., 1984; Hidiroglou e Ivan, 1993) e eficaz em diminuir o desconforto e em permitir a manipulação cirúrgica adequada dos animais, mesmo nos procedimentos que envolveram videolaparoscopia. Durante os procedimentos as movimentações e reflexos à dor foram pouco observados e no período pós-biópsia os animais apresentavam apatia discreta, entretanto, permaneciam alertas, mantinham-se em estação, caminhavam sem dificuldades e demonstravam apetite na grande maioria das vezes.

Embora alguns estudos de biópsia hepática por videolaparoscopia tenham sido conduzidos em bovinos (Phillipo, 1973) e caprinos (Duarte et al., 2006) sob anestesia geral, os resultados obtidos neste experimento indicam que tais procedimentos

Quadro 13. Achados clínicos observados nos animais em 10 dos 64 procedimentos realizados, em seis dias subseqüentes, de acordo com a técnica de biópsia hepática, a semana do experimento em que foi realizada e o número de tentativas executadas.

Animal	Semana	Técnica	Tentativas	Dias após as biópsias					
				01	02	03	04	05	06
39	6	ML	1	–	Apat ¹ + ² ; P.aa +; ↓MR ++	↓MR ++; Inap +; Emag +; <V.ab+	–	–	–
100	6	MU	1	↑FC (+); ↑T ^o (+)	–	–	–	–	–
100	8	TU	1	↑T ^o (+)	↑FC (+); ↑T ^o +	–	–	–	–
101	2	MU	3	–	↑FC (+); ↑T ^o (+)	Apat +; ↓MR +; <V.ab +	↓MR +; <V.ab+	–	–
101	3	PL	1	↑FC +; ↑T ^o (+)	–	–	–	–	–
101	6	TC	1	↑FC (+); ↑T ^o (+)	–	–	–	–	–
109	6	RL	1	↑FC (+); ↑T ^o (+)	↑FC (+); ↑T ^o +	–	–	–	–
109	7	MU	2	Apat +; P.aa +; Anrx; ↓MR(+); Tr.mus +; A.cont +; Dor.ab +	Apt +; ↓MR +; A.cont +; Dor.ab +; ↑FC ++; ↑T ^o +; Mu.cong +	Apt +; ↑FC ++(+); ↑T ^o +; Mu.cong +	–	–	–
132	5	ML	3	↑FC +; ↑T ^o +	–	–	–	–	–
132	6	MC	1	↑FC +; ↑T ^o +; ↓MR (+)	Apat +; ↑FC +; ↑T ^o +; ↓MR +	–	–	–	–

1 – Abreviações: **Apat** apatia; **P.aa** posição anti-álgica; **↓MR** movimentos ruminais fracos; **Inap** inapetência; **Emag** emagrecimento; **↑FC** taquicardia; **↑T^o** hipertermia; **<V.ab** menor volume abdominal; **Tr.mus** tremores musculares; **Anrx** anorexia; **A.cont** abdome contraído; **Dor.ab** dor abdominal; **Mu.cong** mucosas congestas

2 – Intensidade dos sinais clínicos: + leve; ++ moderado; +++ acentuado; (+) intensidade intermediária; – ausente.

3 – Dias subseqüentes após a realização da biópsia. Exemplos: D1: um dia após a biópsia , D2: dois dias.

podem ser realizados apenas com sedação e anestesia local. Protocolo este que é mais facilmente executado e não está associado com a ocorrência de regurgitação e aspiração de conteúdo ruminal, uma das principais complicações observada em ruminantes submetidos à anestesia geral. Por outro lado, apesar de não ter sido utilizada em alguns estudos e de até ser considerada desnecessária para a realização de biópsias percutâneas cegas (Scherer et al., 2000), a anestesia local foi utilizada na maioria dos estudos correspondentes em bovinos e ovinos (Quadros 1 e 2). Seu efeito minimiza o desconforto do animal, sobretudo em casos de necessidade de repetição do procedimento, ou quando a introdução da agulha depende de incisão de pele, como no caso específico da agulha Tru-cut semi-automática. Por estes motivos recomendamos o uso da anestesia local em todos os procedimentos que envolvam biópsias percutâneas.

4.1.3. Patologia clínica

a. Bioquímica sérica

A maior parte dos animais apresentou níveis séricos de gama glutamil transferase (GGT) situados entre 30 e 60UI/l. Dois animais (39 e 109), entretanto, demonstraram valores bastante superiores aos demais. Os níveis de GGT do animal 39 decresceram gradativamente, desde valores acima de 100 UI/l até concentrações próximas dos demais animais. Já as concentrações de GGT do animal 109 oscilaram de forma ampla durante todo o experimento e se mantiveram acima das 60UI/l durante a maior parte do tempo (Gráfico 2). Em alguns momentos os níveis de GGT aumentaram coincidentemente com a realização da 1ª, 2ª e 4ª biópsias. Embora no final do experimento um aumento expressivo tenha ocorrido após a realização da 7ª biópsia. O restante dos animais, que no início apresentaram concentrações individuais entre 40 e 60UI/l, a partir da metade da terceira semana de experimento mantiveram níveis situados entre 30 e 50UI/l. A

comparação entre as concentrações médias dos animais antes e depois da realização de cada técnica de biópsia não demonstrou tendências claras. Houve desde aumento dos níveis após a execução da técnica, concentrações equivalentes ou até declínio dos valores de GGT. Além disso, ficaram evidentes grandes variações em torno das médias (Gráfico 3).

Como os níveis normais de referência de GGT da espécie ovina situam-se entre 20 e 52UI/l (Radostits et al., 2002), os valores de dois animais (39 e 109) oscilaram bem acima das concentrações consideradas fisiológicas para a espécie. Esta oscilação pode ser explicada, em parte, pelo fato de que ambos os animais foram acometidos por fotossensibilização hepatógena pela ingestão de *Brachiaria decumbens*, uma enfermidade comumente associada com aumento da GGT (Lemos et al., 1996; Lemos et al., 1998). O primeiro 17 dias e o segundo cerca de 5 meses antes do início do experimento. No caso do animal 39, a presença de enfermidade hepática em período de convalescência explica claramente os valores declinantes observados de GGT, independente dos procedimentos de biópsia realizados. Já no do animal 109, as oscilações da GGT não apresentaram um padrão uniforme de distribuição e aparentemente sem qualquer relação com intoxicação pela ingestão de *Brachiaria decumbens*. As elevações de GGT coincidiram com leituras realizadas após a 1ª, 2ª, 4ª e 7ª biópsias, ao mesmo tempo em que houve aumentos discretos e dentro do limite de referência da enzima aspartato aminotransferase (AST). Por outro lado, com exceção da 7ª semana de experimento, o incremento dos níveis da GGT do animal 109 não foi acompanhado por manifestações clínicas. Apesar de haver indícios de que as biópsias causaram aumentos significantes de GGT neste animal, acima do limite de referência da espécie, a grande variação dos níveis de GGT observada em outro estudo (Raposo et al., 1998) e em animais normais

na fase piloto deste experimento, inviabilizam qualquer afirmativa neste sentido. Em alguns animais da raça Santa Inês, que nunca tiveram contato com brachiarias e que se apresentavam clinicamente saudáveis, observamos concentrações na ordem de 76 U/l. Da mesma forma, no estudo de intoxicação por *Myoporum laetum* em ovinos da raça corriedale, submetidos à pastagem nativa no Uruguai, as concentrações observadas antes do experimento variaram de 43 a 109, com média de 73,7 U/l (Raposo et al., 1998). Além disso, os resultados descritos em estudo conduzido em ovinos apontaram que não houve aumentos significativos da GGT com o uso de biópsias hepáticas seriadas (Harvey et al., 1984).

Na maioria das aferições de AST realizadas durante o experimento, os valores da enzima se mantiveram entre 100 e 150UI/l. Embora tenha havido elevações individuais em grande parte das leituras (Gráfico 4) e das concentrações médias dos níveis da enzima (Gráfico 5) após os procedimentos de biópsia, o nível máximo de leitura sempre se manteve abaixo de 205UI/l, sob os limites de referência para a espécie (60 a 280UI/l) (Radostits et al., 2002). Resultados similares foram observados em estudos de biópsia hepática em ovinos (Harvey et al., 1984) e bovinos (Braga et al., 1985). Em outro trabalho realizado em bovinos, entretanto, o emprego de biópsias percutâneas com conjunto trocar/cânula de 8mm de diâmetro resultou em aumento significativo da AST 24 horas depois e em níveis normais 96 horas após a realização das biópsias (Amorim et al., 2003). Embora não tenha havido aumentos substanciais nos níveis de AST no presente estudo, deve-se ponderar que a leitura foi realizada três dias depois da realização das biópsias, de acordo com a metodologia prevista no início do experimento. Talvez, em virtude da meia vida curta da enzima (Bain, 2003) e dos aumentos significantes verificados em bovinos 24 horas após a execução das

biópsias (Amorim et al., 2003), eventuais aumentos não tenham sido identificados. Por outro lado, naqueles eventos patológicos que não se resolvem imediatamente, como nos estudos modelo de intoxicação por tetracloreto de carbono em ruminantes, a AST permanece aumentada por até sete dias, com pico de atividade entre o segundo e terceiro dias (Meyer et al., 1995). É provável que uma lesão determinada pelo procedimento de biópsia, capaz de elevar os níveis da enzima de forma significativa também não se resolva imediatamente e que resulte por consequência na manutenção da AST elevada por um período maior. De qualquer forma, a despeito de potenciais elevações da AST nos primeiros dias após a execução das biópsias, a identificação de níveis normais a partir do terceiro dia indicam que os procedimentos de biópsia não produziram danos relevantes ao parênquima hepático.

Os valores médios da proteína total situaram-se entre 6 e 7g/dl nas primeiras três semanas de experimento, oscilaram entre 5 e 6g/dl da 4ª à 6ª semanas, para atingir novamente o nível de 6g/dl na última semana de experimento (Gráfico 6). As concentrações médias de albumina demonstraram trajetória similar, com níveis abaixo de 2,5g/dl somente da quarta à sexta semana (Gráfico 6). Os dados sugerem que a queda da proteína total esteve estreitamente associada ao declínio da concentração de albumina. Apesar da albumina ser produzida exclusivamente no fígado (Meyer et al., 1995), este decréscimo dos valores médios da proteína não parece estar relacionado com as injúrias provocadas pelas biópsias hepáticas, já que os relatos de hipoalbuminemia associados aos danos hepáticos não incluem distúrbios agudos, mas apenas as enfermidades de curso crônico (Bain, 2003). Além disso, várias outras causas podem determinar o decréscimo dos níveis desta proteína. Dentre as causas mais prováveis, que poderiam explicar estes dados, figuram os distúrbios

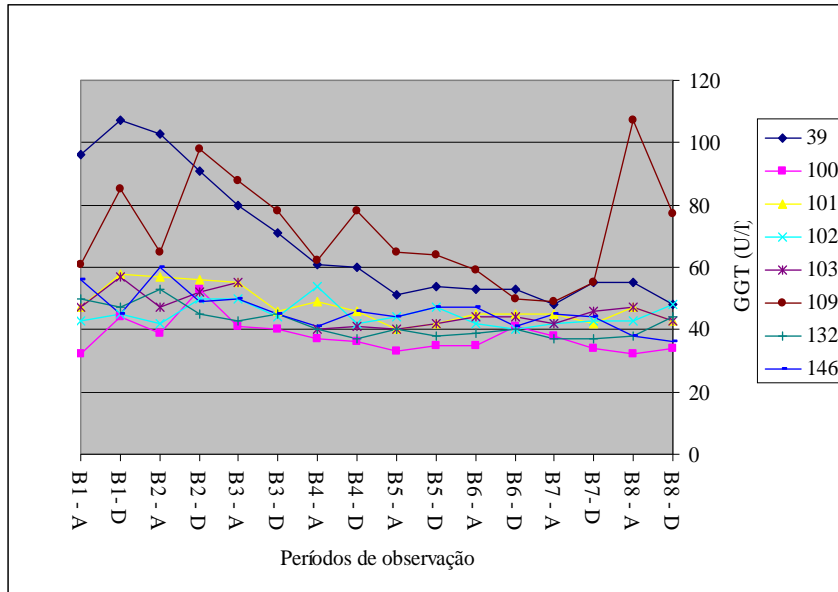


Gráfico 2. Valores individuais de GGT (U/l) sérica antes (A) e 3 dias após (D) a realização das técnicas de biópsia (B) hepática. (exemplo B1 – A: antes da primeira biópsia). A seqüência individual das técnicas está disponível no quadro 9.

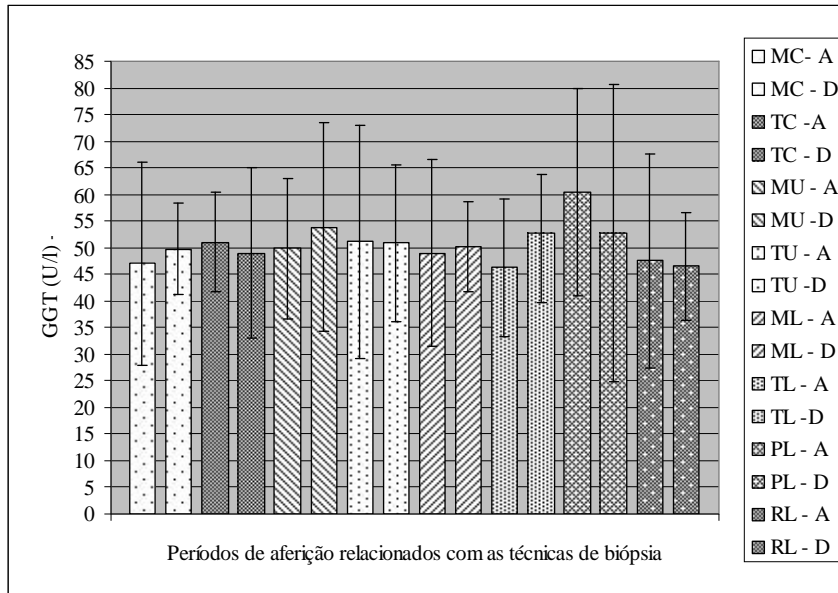


Gráfico 3. Valores médios e desvio padrão de GGT (U/l) sérica nos ovinos antes (ex. MC - A) e 3 dias depois (ex. MC - D) da realização de cada técnica de biópsia hepática.

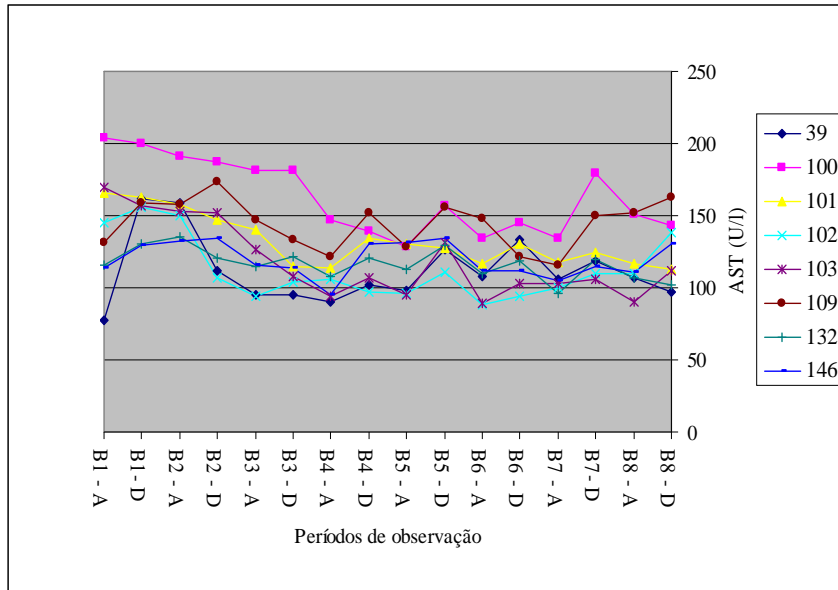


Gráfico 4. Valores individuais de AST sérica (U/l) de cada animal experimental antes (A) e três dias depois (D) da execução das técnicas de biópsia (B) hepática. (exemplo B1 – D: depois da primeira biópsia). A seqüência individual das técnicas está disponível no quadro 9.

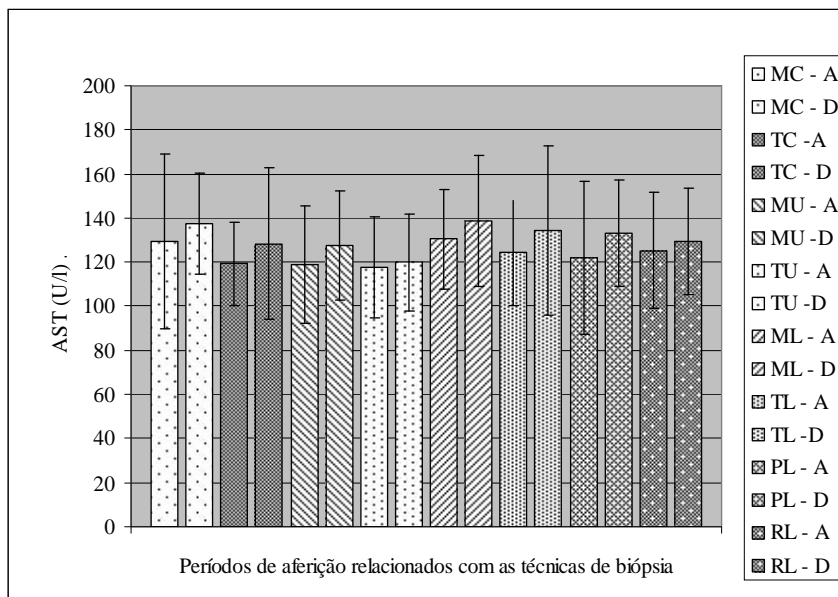


Gráfico 5. Valores médios e desvio padrão de AST (U/l) sérica nos ovinos antes (ex. MC - A) e 3 dias depois (ex. MC – D) da realização das técnicas de biópsia.

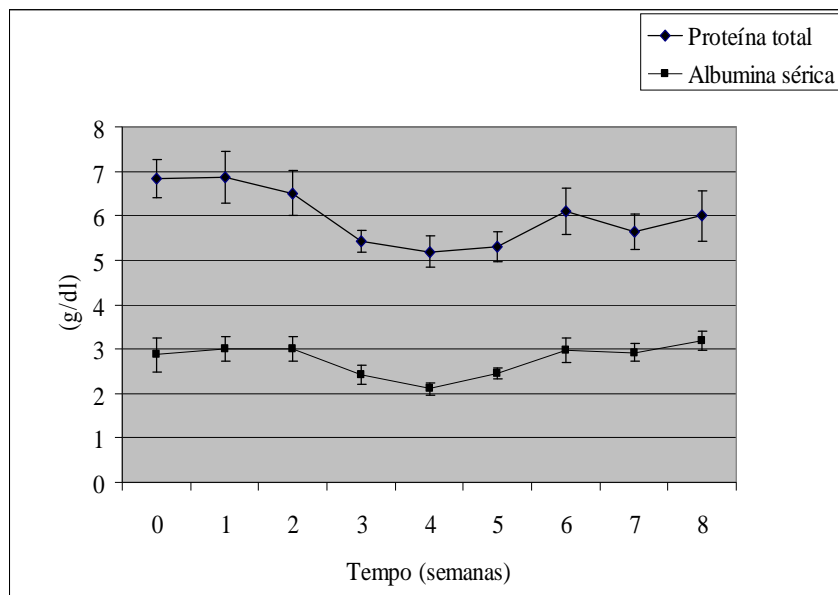


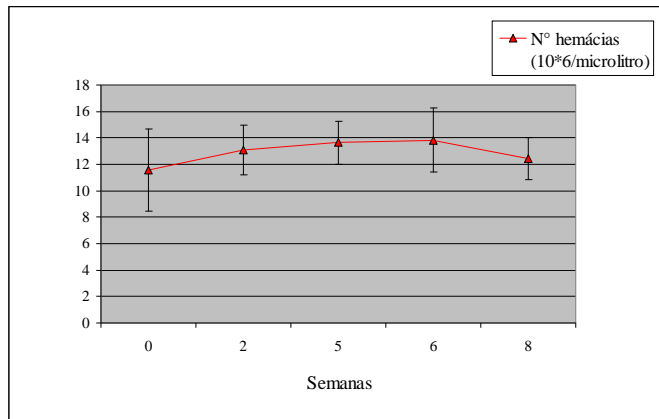
Gráfico 6. Valores médios e desvio padrão semanais da proteína total sérica e da albumina sérica (g/dl) dos ovinos durante experimento de biópsia hepática.

nutricionais e as parasitoses intestinais. No decorrer do experimento a qualidade do capim elefante não foi uniforme e houve períodos em que o capim fornecido aos animais continha alto teor de fibra. Em adição, apesar da vermifugação com produtos a base de ivermectina e albendazole, foi observada contagem elevada de OPG (ovos por grama de fezes) em quatro animais durante a sexta semana de experimentação (700 a 6.400 OPG), antes da terceira aplicação do vermífugo. Em outros estudos de biópsias seriadas em ovinos e de biópsias realizadas uma única vez em bovinos, foram observados níveis normais (Harvey et al., 1984) e teores elevados da proteína total (Amorim et al., 2003), respectivamente.

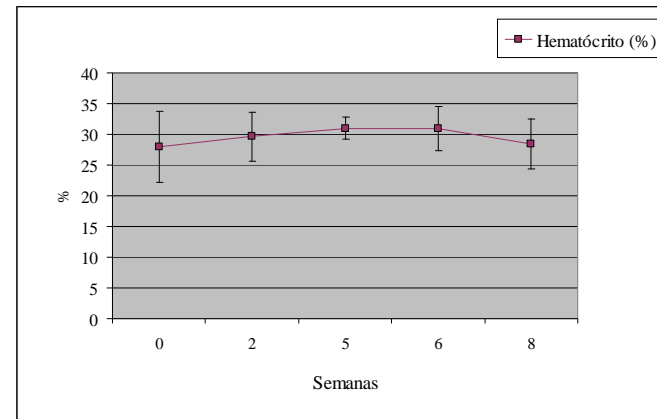
b. Hematologia

Apesar da grande oscilação observada em torno dos valores médios, o número de eritrócitos variou entre 10 e 12($10^6/\mu\text{l}$) na primeira leitura. Nas semanas subsequentes houve aumento leve e gradativo destes

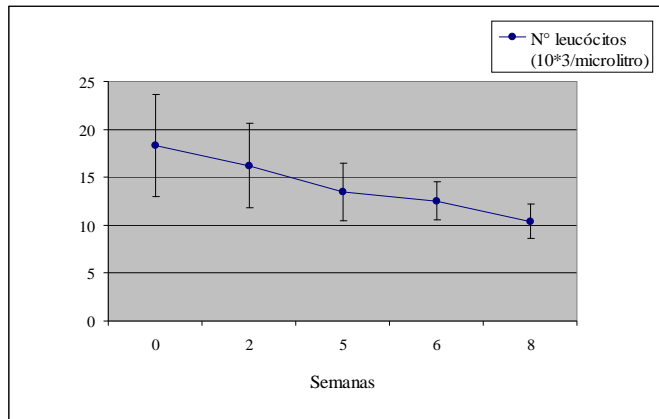
números até a sétima semana de experimentação. Após o término do experimento, entretanto, verificou-se decréscimo discreto da sua contagem. (Gráfico 7A). Os valores do hematócrito acompanharam esta mesma tendência (Gráfico 7B). Em ambos os casos, o número de eritrócitos e os valores do hematócrito permaneceram dentro dos limites de referência durante todo o decorrer do experimento (9 a $15 \times 10^6/\mu\text{l}$ e 27 a 45% , respectivamente) (Radostitis et al., 2000). O número de leucócitos, por outro lado, inicialmente acima do valor de referência para a espécie nas primeiras semanas (9 a $12 \times 10^3/\mu\text{l}$), decresceu de maneira sistemática no decorrer das semanas para atingir a contagem próxima aos $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ no final do experimento (Gráfico 7C).



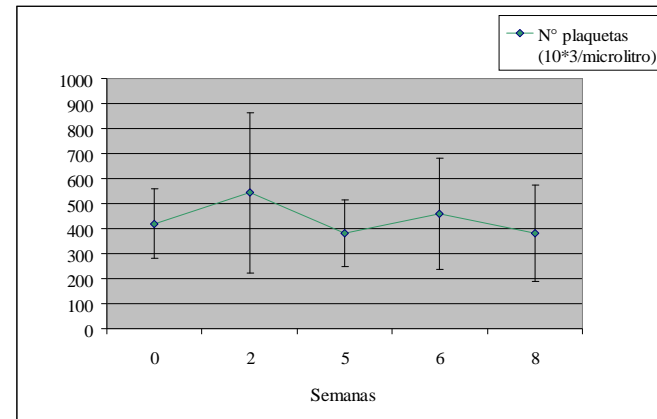
(A)



(B)



(C)



(D)

Gráfico 7. Valores médios e desvio padrão da hematimetria dos animais, aferidos um dia antes (0) e durante a segunda (2), quinta, sexta e a oitava semanas de experimentação. A. Número de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{l}$). B. Hematócrito (%). C. Número de leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$). D. Número de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$).

Apesar da grande variação em torno dos valores médios do número de plaquetas, sobretudo na segunda e sétima semanas, a contagem de plaquetas se manteve dentro do intervalo de referência, entre 250 e 750($\times 10^3/\mu\text{l}$) (Radostitis et al., 2002) (Gráfico 7D).

A partir dos resultados obtidos verificou-se que não houve efeito relevante das biópsias hepáticas seriadas sobre os principais parâmetros da série vermelha. Fato já constatado em outros estudos correspondentes (Harvey et al., 1984; Amorim et al., 2003). Por outro lado, a leucocitose observada antes e nas primeiras 5 semanas de experimentação, de forma similar ao relatado por Harvey et al. (1984), parece ter sido determinada por estresse, uma causa comum de leucocitose (Taylor, 2007). Aparentemente o principal fator de estresse observado em quatro animais foi a falta de período de adaptação adequado antes do início do experimento. Tais animais foram submetidos aos procedimentos de biópsia já no terceiro dia após o seu ingresso nas instalações do Hospital Veterinário. No início, os animais manifestavam grande agitação durante o exame clínico, mas esse comportamento se abrandou com o decorrer das semanas.

4.1.4. Execução das técnicas

O posicionamento do animal e o local escolhido para realização das biópsias (no 11º espaço intercostal, na altura da tuberosidade ilíaca) garantiram aos procedimentos de biópsias percutâneas cegas (MC e TC) grande agilidade e taxa de recuperação de amostras, similar às demais técnicas percutâneas guiadas por ultrasonografia e por videolaparoscopia. Na literatura consultada, não há relato de emprego de metodologia semelhante à utilizada no presente trabalho. Os locais de biópsia descritos nos artigos correspondentes variam desde o 8º espaço intercostal (Pearson e Craig, 1980) até porções mais caudais como o início da fossa

paralômbar direita (Hogan et al., 1971). Porém, nos estudos mais recentes, o uso do 10º EI tem sido disseminado entre os autores (Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996; Scherer et al., 2000). Como segunda referência são empregadas a distância fixa da coluna vertebral até o EI escolhido (Hogan et al., 1971; Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996) ou a intersecção do EI com linhas que interligam estruturas anatômicas adjacentes (Dick, 1944; Scherer et al., 2000).

A opção pelo uso de linha que interligam estruturas anatômicas neste estudo foi norteada pelo fato, já apontado por Braga et al. (1985) de que tal metodologia minimiza os erros de execução da técnica produzidos pelas variações raciais e/ ou de faixa etária, uma vez que as linhas de referência variam proporcionalmente de acordo com o porte dos animais. Já a escolha do 11º espaço intercostal como referência foi estabelecida em função de três circunstâncias: primeiro, no 11º espaço intercostal verifica-se a maior área de contato do órgão com a parede corpórea; segundo, nesta porção o órgão também apresenta sua maior espessura e, por último, o 11º espaço intercostal é mais distante da vesícula biliar do que outros espaços intercostais utilizados como referência, como o nono e o décimo espaços intercostais.

Durante a realização das biópsias percutâneas, as agulhas Tru-cut não foram introduzidas diretamente pela pele como as agulhas de Menghini. Em vez disso, foram introduzidas através de uma pequena incisão da pele. Esta pequena alteração no procedimento foi realizada porque verificou-se na fase piloto do experimento que a pele intacta interferia no deslizamento da cânula externa da agulha e por consequência diminuía o comprimento das amostras recuperadas.

Entre as técnicas percutâneas auxiliadas por recursos de imagem, o uso da ultra-

sonografia imprimiu maior agilidade ao procedimento e de forma menos invasiva do que através da videolaparoscopia. Entretanto, apesar da ultra-sonografia permitir a realização das biópsias em diferentes pontos do fígado e em diferentes profundidades do parênquima, esta possibilidade se aplica somente à área de projeção ultra-sonográfica do órgão, que nos ruminantes se estende principalmente do 12º até o 9º espaço intercostal (Braun et al., 1996). Desta forma, este método permite acesso amplo ao lobo direito, caudado, mas restringe o alcance do lobo quadrado e esquerdo, que ficam sobrepostos pelos pulmões em praticamente toda a sua extensão. Embora o lobo esquerdo possa ser escaneado do 8º ao 6º espaços intercostais, o acesso ultra-sonográfico se limita apenas às margens ventrais do órgão. Nestas áreas, o acesso restrito ao órgão e a movimentação pulmonar dificultam muito ou impedem qualquer possibilidade de realização de biópsias percutâneas. Em contrapartida, o emprego da videolaparoscopia garante amplo acesso a toda a superfície parietal do fígado, inclusive do lobo esquerdo. Esta possibilidade, única entre as outras modalidades de biópsia estudadas, permite que se obtenham amostras de qualquer área do fígado, tanto pela via percutânea como através das técnicas PL e RL. O acesso amplo às biópsias é particularmente útil para se aferir a concentração *in vivo* de substâncias em diferentes porções do fígado, procedimentos que antes só eram possíveis após o sacrifício dos animais (Anderson et al., 1962; Hogan, 1971). A técnica tem sido testada por Hidiroglou e Ivan (1993), em biópsias seriadas dos lobos direito, quadrado e esquerdo sem a ocorrência de complicações relevantes. Além disso, a videolaparoscopia é um recurso que propicia o controle visual do procedimento, através de imagem real e ampliada, e garante maior acuidade e precisão durante a manipulação dos instrumentais de biópsia. Neste contexto, a técnica mostra-se útil para realização de biópsias em lesões localizadas

e superficiais do parênquima hepático (Kerwin, 1995), para a colheita de grande quantidade de tecido de forma segura (Silva et al., 2002) e para a identificação precoce (Kerwin, 1995) e correção imediata de complicações inerentes à técnica (Costa et al., 2005).

Apesar de não ter sido alvo da investigação deste trabalho, pode-se inferir que o uso das biópsias percutâneas cegas podem ser mais exequíveis em condições de campo do que as técnicas guiadas por ultra-sonografia ou por videolaparoscopia. As técnicas cegas não dependem de equipamento específico de alto valor, são facilmente realizáveis e estiveram associadas com taxas de recuperação de amostras bastante semelhantes às das demais técnicas utilizadas neste estudo. Entretanto, deve-se ponderar que o local de biópsia é fixo neste tipo de técnica, o que impede a colheita de fragmentos de outras áreas do órgão ou de lesões focais distribuídas pelo parênquima.

A principal dificuldade encontrada durante os procedimentos de videolaparoscopia foi a perfuração da bolsa omental. Em alguns procedimentos a agulha de Veress ultrapassou a lâmina superficial do omento maior e o CO₂ administrado se acumulou na bolsa omental e promoveu a distensão simultânea da cavidade abdominal. Como resultado, o conjunto trocarte/cânula de 11mm penetrou no interior da bolsa omental, à medida que ultrapassou a parede abdominal. Após a introdução do endoscópio verificava-se uma face do omento sobre as vísceras abdominais (Figuras 16A e B), o que impedia a realização das técnicas de biópsia hepática por videolaparoscopia. Para contornar esta dificuldade o CO₂ foi retirado da cavidade abdominal e todo o procedimento inicial da videolaparoscopia foi reiniciado, o que resultou em acréscimo considerável ao tempo de cirurgia. Esta dificuldade e suas implicações foram relatadas em estudos correspondentes realizados em ovinos

(Phillippo, 1973; Hidioglou e Ivan, 1993). Em um caso apenas, por ocasião do último procedimento de videolaparoscopia no animal 109, houve aderência do omento à parede abdominal, fato que impediu o monitoramento da superfície hepática.

No decorrer do experimento houve perfuração do intestino delgado em um procedimento, durante a introdução às cegas do conjunto trocar/cânula de 11mm no animal 109. Verificaram-se dois pontos de descontinuidade na serosa do intestino delgado, com visualização de conteúdo intestinal limitado à superfície do órgão (Figura 16C). Nos dias subseqüentes o animal foi medicado com enrofloxacin por cinco dias e não apresentou qualquer alteração clínica ou aderências atribuíveis a esta lesão.

A hemorragia observada durante a videolaparoscopia foi pequena e equivalente com o uso das agulhas de Menghini e Trucut. Apesar de ter havido um sangramento relativamente maior pelo uso da pinça laparoscópica de biópsia, a hemorragia observada foi limitada. Por outro lado, a hemorragia observada com a execução da técnica RL atingiu maiores proporções, principalmente quando as incisões se estendiam mais para o centro do órgão. Já naquelas incisões mais limitadas à periferia do lobo direito o sangramento foi menos pronunciado. Esta associação da profundidade da incisão com a gravidade da hemorragia já havia sido apontada em trabalho similar desenvolvido em caninos (Costa et al., 2005).

Entre as biópsias guiadas por ultrasonografia, as dificuldades encontradas se limitaram à localização da extremidade das agulhas de biópsia em algumas ocasiões. Embora, o acoplamento do transdutor linear no 10º espaço intercostal e o posicionamento do feixe no sentido caudo-lateral tenha sido eficaz em demonstrar a agulha e o parênquima no mesmo plano, possivelmente

outro tipo de transdutor poderia facilitar o procedimento. Acreditamos que, de acordo com o descrito por Finn-Bodner e Hathcock (1993) e em função da restrita superfície de contato disponível entre a 10ª e 11ª costelas, um transdutor setorial com menor superfície de contato poderia ser mais facilmente manuseado e permitiria a formação de imagens com menor formação de artefatos determinados pela interposição da 11ª costela.

4.1.5. Achados macroscópicos

O aspecto macroscópico da superfície hepática foi monitorado através de videolaparoscopia em intervalos quinzenais, no momento que precedia a realização de outra técnica assistida por videolaparoscopia. As lesões hepáticas relacionadas com as biópsias percutâneas às cegas (MC e TC), guiadas por ultrasonografia (MU e TU) e por videolaparoscopia (ML e TL) restringiram-se a pequenas áreas circunscritas de fibrose com leve depressão da superfície hepática (Figuras 16E e F). Já o uso da técnica PL resultou em áreas de fibrose um pouco mais extensas, com deformação e retração do bordo hepático (Figura 16D). Em nenhum caso, entretanto, observou-se formação de aderências com estruturas adjacentes. Por outro lado, as lesões associadas com a técnica RL foram mais graves e abrangentes (Figura 17). Dos cinco animais avaliados durante o experimento, quatro apresentaram aderências do fígado com estruturas adjacentes. No único caso em que não houve aderência verificou-se um coágulo organizado aderido ao local da incisão 15 dias depois e fibrose e retração do bordo hepático afetado após 30 dias (Figura 17A e B). Nos demais animais, sempre foram visíveis coágulos organizados no prazo de 15 dias (Figura 17D), bem como fibrose e retração do tecido hepático. Além disso, havia invariavelmente aderência de segmento de intestino delgado (Figura 17C e E) ou do omento ao bordo hepático afetado

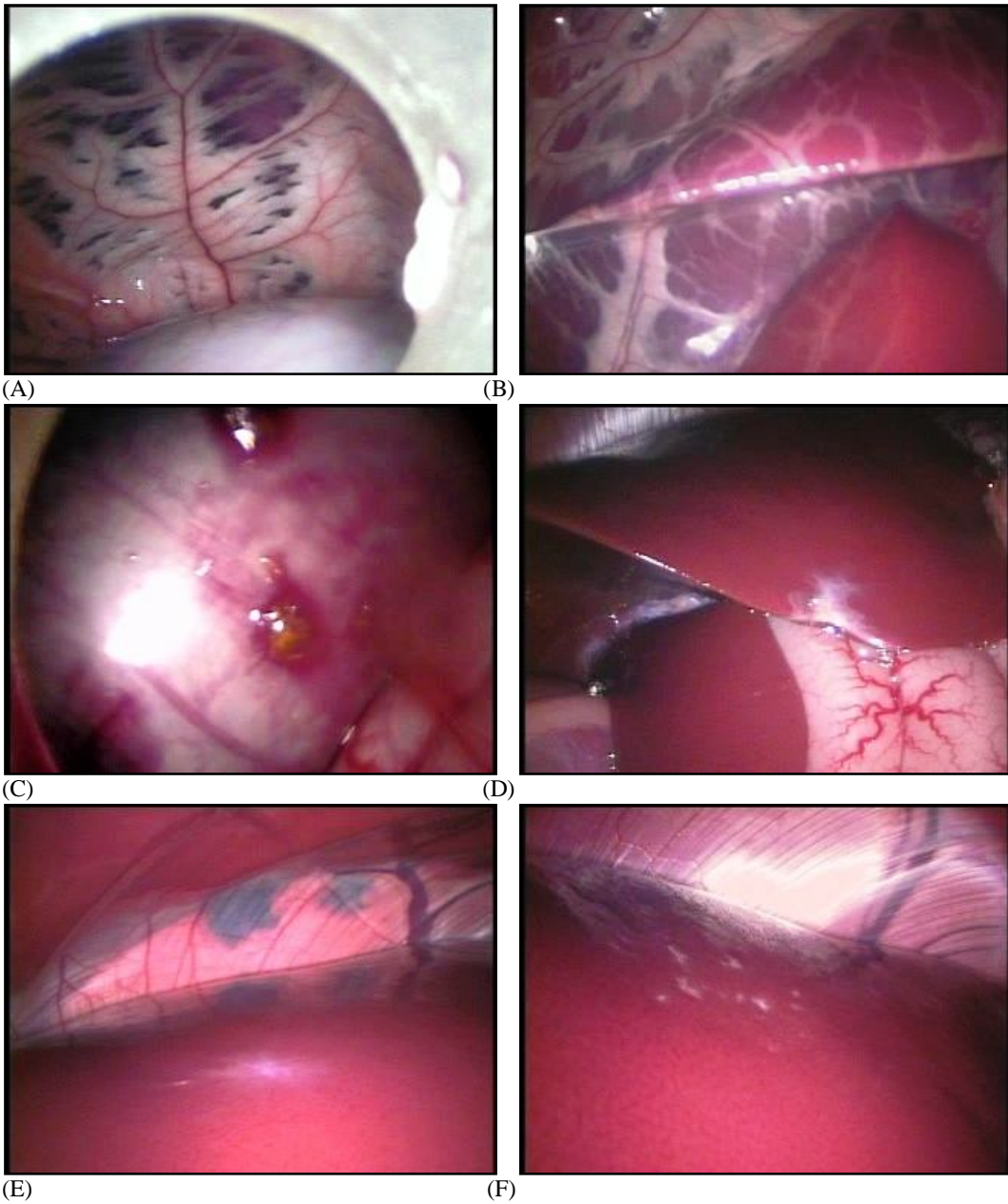


Figura 16. Imagens endoscópicas da distensão da bolsa omental, da perfuração do intestino delgado e das lesões causadas pelas biópsias hepáticas percutâneas e pela técnica PL. A. Endoscópio posicionado entre as lâminas do omento maior, com distensão da bolsa omental. B. Lâmina profunda do omento maior sobre a superfície dos lobos direito e caudado do fígado. C. Dois pontos de perfuração na superfície do intestino delgado causados pela introdução às cegas do primeiro trocarte de 11 mm (animal 109). D. Cicatriz esbranquiçada em forma de “V”, com retração do bordo hepático 15 dias após a realização da técnica PL (animal 132). E. Cicatriz puntiforme na superfície hepática, duas semanas após a realização da técnica MC (animal 101). F. Várias cicatrizes na superfície hepática causadas por biópsias percutâneas.

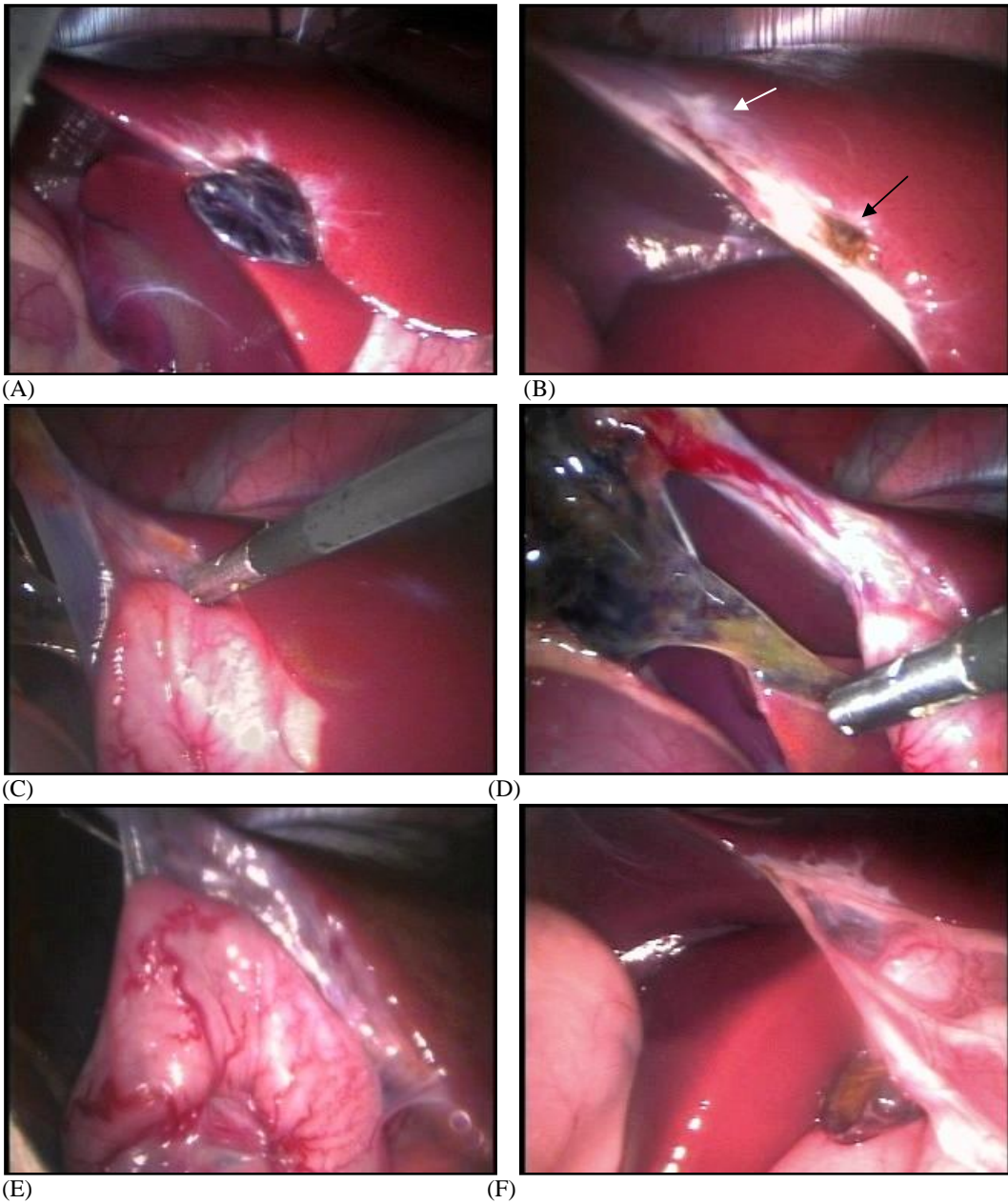


Figura 17. Imagens endoscópicas das lesões determinadas pela técnica de biópsia hepática RL. A. Coágulo organizado aderido ao local da ressecção. Tecido hepático retraído com as margens fibrosadas (n° 102 – evolução de 2 semanas). B. Mesma lesão da figura A (seta preta), duas semanas depois. Na mesma imagem nota-se cicatriz associada à técnica PL (seta branca), com evolução de 2 semanas. C. Aderência do intestino delgado à área da incisão. Bordo hepático contraído e fibrosado (n° 101 – evolução de 2 semanas). D. Mesma lesão da figura C. coágulo organizado aderido à superfície ventral do lobo direito. E. Mesma lesão das figuras C e D, com 6 semanas de evolução. F. Aderência do omento à área de ressecção. Bordo hepático retraído e fibrosado (n° 103 – evolução de 2 semanas).

pela ressecção (Figura 17F). No entanto, no animal 146, as aderências não ficaram confinadas apenas à margem manipulada do fígado. Elas se estenderam por toda a margem caudal do lobo direito até a superfície dorso-caudal do fígado e atingiu a porção dorsal da cavidade abdominal até os limites craniais do rim direito.

As lesões observadas com o uso das técnicas percutâneas com agulhas de Menghini ou Tru-cut foram mínimas e, por esta razão, recomendáveis em situações que demandam a repetição das técnicas. Da mesma forma, apesar de produzir lesões mais extensas do que as biópsias percutâneas, a técnica PL não produziu aderências ou complicações maiores e também pode ser preconizada para procedimentos seriados. De fato tanto as biópsias hepáticas percutâneas (Harvey et al., 1984) como as por laparoscopia (Hidiroglou e Ivan, 1993) têm sido realizadas de forma repetida em ovinos sem qualquer dificuldade ou complicação. Já a técnica RL não parece propícia para estudos que exijam repetição das biópsias, uma vez que determinou a ocorrência de um alto percentual de aderências nos animais examinados. No único animal em que não houve formação de aderências, o fragmento retirado apresentou o menor peso entre os demais. Provavelmente a retirada de fragmentos menores poderia minimizar este efeito. Outra forma de reduzir a ocorrência de aderências poderia ser através de alterações na técnica cirúrgica. Dentre as alternativas estão inclusas a eletrocauterização da ferida cirúrgica (Costa et al., 2005), ou o emprego do instrumental “harmonic scalpel” que secciona e cauteriza o tecido simultaneamente (Vasenje et al., 2006). Todavia, não há como garantir que haverá menor incidência de aderências com o uso destes instrumentais porque nestes dois estudos não houve monitoramento pós-operatório dos cães submetidos às biópsias.

4.1.6. Avaliação das amostras

a. Tentativas

Os números médios de tentativas empregadas para obtenção de amostras e os desvios padrões correspondentes foram maiores entre as técnicas de biópsia com agulhas de Menghini (MC, MU e ML). Dentre estas três técnicas, a MU apresentou a maior média de tentativas. Todavia, estatisticamente distinta apenas da técnica TU, com média exata de uma tentativa. Entre as demais técnicas não houve diferenças estatísticas (Tabela 1 e Gráfico 8A).

Embora a análise estatística tenha demonstrado diferenças significativas apenas entre os dois extremos, MU e TU, houve uma tendência de maior dificuldade em se obter amostras com as agulhas de Menghini do que com as Tru-cut. Ficaram evidentes tanto a superioridade entre as médias, como a marcada variação em torno da média para as técnicas com agulhas de Menghini. Esta menor eficiência de métodos aspirativos já havia sido apontada em estudo similar de biópsias percutâneas em bovinos (Buckley et al., 1986). Para estes autores o êxito dos procedimentos aspirativos requeria maior treinamento e as falhas nos instrumentais correspondentes estavam associadas, sobretudo, à perda de pressão pela entrada de ar na junção da cânula com seringa ou no interior da seringa. No presente estudo, aparentemente as falhas no mecanismo de sucção das agulhas de Menghini foram responsáveis pela menor eficiência destes instrumentos. No início do experimento as agulhas não foram secas de forma adequada após a desinfecção úmida, uma recomendação expressa de estudos antigos a este respeito (Bone, 1954). Subsequentemente, mesmo após a correção da metodologia, ainda persistiram algumas perdas de amostras ou colheitas de fragmentos pequenos. É provável que o fator determinante para os resultados negativos obtidos tenha sido a reutilização da agulha, um instrumento descartável, com maior

parte dos componentes de plástico. O maior indício deste tipo de falha no instrumental foi o número expressivo de tentativas empregadas com a agulha de Menghini guiada por ultra-sonografia. Está claro, que este resultado não esteve relacionado com a forma de guiar a biópsia, mas sim com o tipo de agulha utilizado. Mesmo porque os melhores resultados do experimento neste quesito foram obtidos com as agulhas Tru-cut guiadas por ultra-sonografia. De qualquer forma, embora os procedimentos tenham sido realizados por apenas uma pessoa treinada, não há como descartar falhas na manipulação do instrumental.

Já o uso das agulhas Tru-cut foi acompanhado de melhor recuperação das amostras, com média de tentativas e desvios padrões menores. Além da relatada eficiência do método de guilhotina sobre os instrumentais de aspiração (Buckley et al., 1986), outro fator que parece ter contribuído para este melhor resultado foi o mecanismo de avanço semi-automático da cânula da agulha, já que o uso destes dispositivos automáticos reduz a necessidade de repetição da técnica por garantir a recuperação de amostras maiores do que as obtidas com agulhas Tru-cut manuais (Hoope et al., 1986). Diferente do que ocorreu com as agulhas Menghini, a reutilização não afetou o funcionamento das agulhas Tru-cut, principalmente porque o uso de cola epóxi sobre a superfície de apoio da agulha preveniu o desprendimento da cânula externa. A possibilidade de reutilização de agulhas Tru-cut já havia sido apontada em outro trabalho (Kerwin, 1995).

É importante ressaltar que a associação entre o uso de agulha Tru-cut com a ultra-sonografia resultou na melhor taxa de recuperação de amostras, com média exata de uma tentativa. Este fato demonstra que a ultra-sonografia contribuiu para este resultado, mas que, sobretudo, o número de tentativas foi mais influenciado pelo tipo de agulha do que com a forma de guiar as

biópsias percutâneas. Entre as outras biópsias percutâneas, realizadas às cegas ou através da videolaparoscopia com agulhas Tru-cut, o número de tentativas também sofreu o mesmo tipo de influência.

b. Peso

Dentre as biópsias percutâneas, o peso médio total das amostras obtidas foi significativamente menor com o uso das agulhas Tru-cut (TC, TU, TL), do que com agulhas de Menghini (MC, MU, ML). Quando as técnicas com as mesmas agulhas foram comparadas entre si verificou-se equivalência entre as executadas com agulhas de Menghini e diferenças significativas entre as realizadas com agulhas Tru-cut. O peso médio das amostras da técnica TU foi inferior ao obtido com a TC. A técnica de ressecção por videolaparoscopia (RL) mostrou ser bastante superior a todas as demais técnicas e a PL, por sua vez, estatisticamente superior a todas as biópsias percutâneas no que se refere ao peso das amostras (Tabela 1 e Gráficos 8B e C).

Quando o peso total das amostras foi dividido pelo número de tentativas para se verificar o peso calculado por tentativa de obtenção da amostra, não foram detectadas diferenças estatísticas entre os pesos das biópsias percutâneas (Tabela 1 e Gráfico 8D). Como o número de tentativas foi menor entre as técnicas realizadas com agulhas Tru-cut, a média destas não sofreu grandes alterações. Por outro lado, naquelas técnicas em que se usaram agulhas Menghini a redução foi mais marcada. Mesmo assim, o peso médio das amostras relacionados com as duas técnicas, MC e ML, permaneceram superiores ao das técnicas com agulhas Tru-cut. Os valores de peso associados às técnicas com agulhas de Menghini também apresentaram maior intervalo de variação, expressos por desvios padrões mais amplos e pelo maior peso das amostras obtidas com apenas uma tentativa (Quadro 14).

Apesar de não terem sido observadas diferenças estatísticas entre as técnicas percutâneas neste quesito, é visível a capacidade das agulhas de Menghini em colher comparativamente maior quantidade de tecido, muito embora, haja grande oscilação entre os valores obtidos. Afora a técnica MU, exposta a um grande número de tentativas, o peso médio das outras duas técnicas MC e ML variou de 41 a 45mg e o intervalo de variação do peso das amostras obtidas com apenas uma tentativa foi de 22 a 85mg. Já o uso das agulhas Tru-cut garantiu pesos mais uniformes das amostras, porém com pesos mais limitados que variaram em média de 26 a 29mg (Tabela 1) e intervalos de variação mais discretos de 22,4 a 34,6mg (Quadro 14). A igualdade estatística, os valores médios e os intervalos equivalentes, observados entre os pesos das biópsias percutâneas realizadas com o mesmo tipo de agulha, demonstra que este parâmetro não sofreu interferência do uso de métodos de imagem para guiar os

procedimentos de biópsia, como ultrasonografia e videolaparoscopia.

Os pesos médios das amostras obtidos com agulhas Tru-cut foram levemente superiores aos observados em outros estudos realizados em ovinos (Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996). Harvey et al. (1984) obtiveram amostras de 25mg com agulha do mesmo calibre utilizado neste estudo, enquanto Ferreira et al. (1996) recuperaram amostras com peso de 22mg com agulha de menor diâmetro (0,5mm menor). Em contrapartida, os pesos obtidos com agulhas de Menghini foram muito inferiores aos relatados por Braga et al. (1985), com o uso de agulha de Menghini reutilizável de 120X15 em bovinos. Neste trabalho os pesos obtidos foram surpreendentemente elevados para este tipo de agulha e variaram de 800 a 1.200mg. Dentre os fatores que poderiam explicar estes números figura o emprego de mais de uma tentativa. Porém, o trabalho não traz qualquer citação a este respeito.

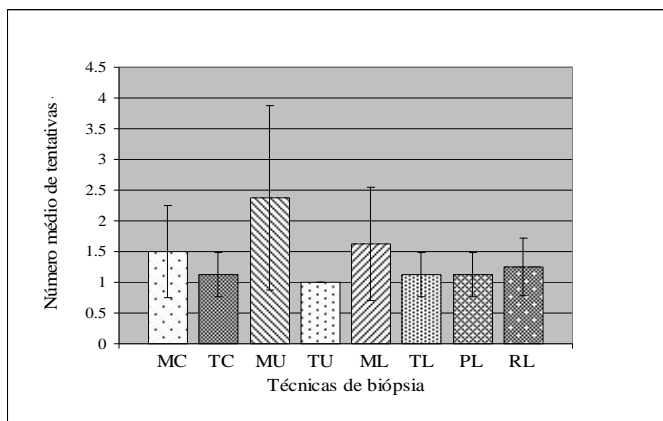
Tabela 1. Comparação do número médio de tentativas despendidas para obtenção de amostras representativas e do peso médio (mg) dos fragmentos hepáticos de acordo com as técnicas de biópsia empregadas.

	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
Número de tentativas	1,5 ^{ab}	1,125 ^{ab}	2,375 ^b	1 ^a	1,625 ^{ab}	1,125 ^{ab}	1,125 ^{ab}	1,25 ^{ab}
Peso total	48,5 ^c	32,2 ^b	52,2 ^c	26,2 ^a	61,6 ^c	30,9 ^{ab}	132,3 ^d	1362,4 ^e
Peso/tentativas	41,0 ^a	29,4 ^a	29,8 ^a	26,2 ^a	45,9 ^a	27,8 ^a	124,5 ^b	1151,6 ^c

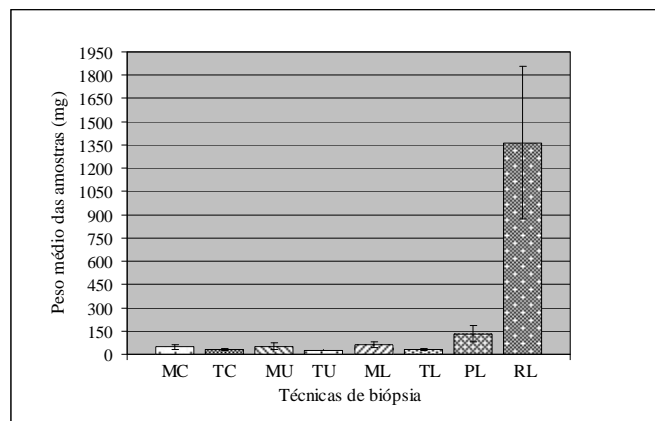
^aMédias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente (p<0,05).

Quadro 14. Intervalo de variação do peso das amostras (mg) hepáticas obtidas com apenas uma tentativa.

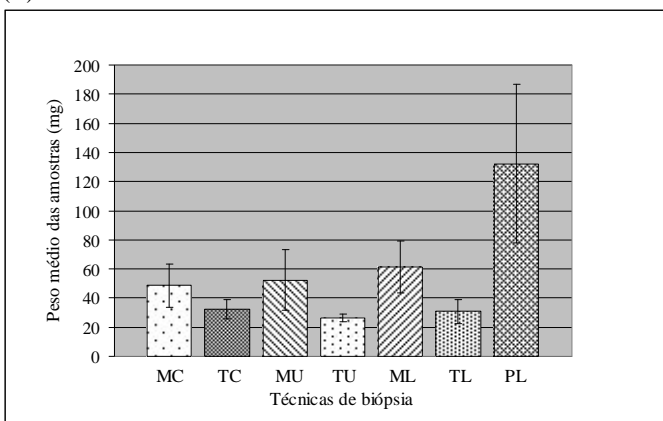
	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
Varição do peso	31,7 a 74	23,3 a 34,6	22,9 a 70,5	23,1 a 30,8	37,2 a 88,5	22,4 a 34,1	96,1 a 260,8	599,7 a 1667,5
Biópsias com uma tentativa	6	7	3	8	5	7	7	6



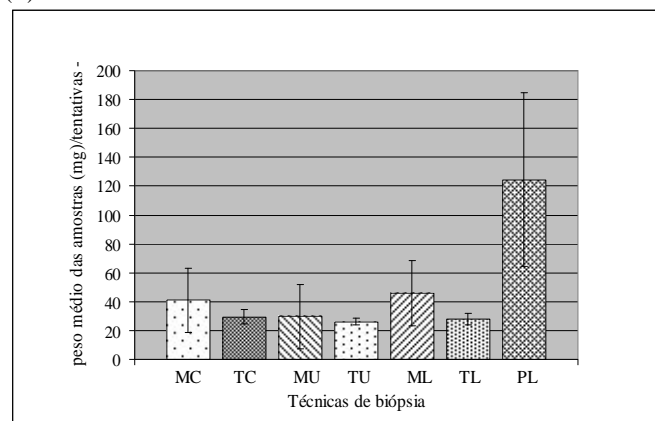
(A)



(B)



(C)



(D)

Gráfico 8. Número de tentativas, peso das amostras e desvios padrões obtidos com as técnicas de biópsia hepática. (A) Número médio de tentativas. (B) Peso médio total (mg) das amostras (C) Valores do peso médio total (mg) das amostras citados no item B, sem os dados da técnica RL. (D) Peso médio obtidos por tentativa empregada (peso/tentativas).

As demais técnicas videolaparoscópicas propiciaram a obtenção de amostras com pesos bastante consideráveis. A técnica RL apresentou o maior valor médio, com peso de 1150mg, bastante superior a todos os demais tratamentos, e a técnica PL peso médio de 124mg (Tabela 1). O peso médio das amostras adquiridas com a técnica PL foi inferior ao relato por Hidiroglou e Ivan (1993). Através do emprego de metodologia bastante similar, obtiveram amostras com pesos da ordem de 300mg, mais que o dobro do peso médio conseguido no presente estudo. Por outro lado os pesos alcançados com a técnica RL foram comparáveis às técnicas aspirativas realizadas em bovinos com conjuntos trocar/cânula de grosso calibre com o intuito de dosar substâncias do tecido hepático (Quadro 2).

Para se aferir a concentração de minerais hepáticos, a escolha da técnica de biópsia dependerá do tipo de análise mineral disponível. Caso só haja disponibilidade de métodos mais antigos como a espectroscopia de absorção atômica, em que é necessário um grama de tecido fresco (Bang et al., 1990), as técnicas de escolha seriam a PL e RL. Ao optar pela PL, considerando o peso médio, haveria necessidade de várias repetições. Frente a métodos mais recentes como o “inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy” (ICP-AES) com nebulização ultra-sônica, a necessidade de volume de amostra decresceria sensivelmente para apenas 5mg de matéria seca (Braselton et al., 1997). Nesta condição qualquer tipo de biópsia percutânea, seja com agulha Tru-cut ou agulha de Menghini, provavelmente garantiria amostras adequadas para a realização das análises.

c. Veias centrolobulares

O número de veias centrolobulares (Figura 18A) totais observados nas amostras foi relativamente uniforme entre as técnicas de biópsias percutâneas empregadas. Foram observadas diferenças estatísticas apenas entre os valores médios extremos: menor

valor com o uso da técnica TU e a maior número com o da ML. Apesar do número médio relacionado com a técnica PL ter sido superior à maioria das técnicas percutâneas, tais diferenças não foram significativas (Tabela 2). Já a técnica RL, esteve associada indiscutivelmente com a maior quantidade de veias centrolobulares do que todas as demais técnicas.

A partir da divisão do número de veias centrolobulares pelo número de tentativas empregadas na obtenção das amostras, verificou-se equivalência estatística neste parâmetro entre todas as técnicas percutâneas e a técnica PL (Tabela 2). A média relacionada à técnica MU decresceu de forma marcada em função do grande número de tentativas realizadas. Já a média de veias centrolobulares obtidas com a técnica ML, apesar de levemente superior a das demais técnicas percutâneas, esteve associada a amplos valores de desvio padrão e a maiores intervalos de variação, assim como a média relacionada com a técnica MC. Da mesma forma, a média de veias centrolobulares obtidas com a técnica PL foi levemente superior, mas apresentou valor de desvio padrão e intervalos de variação ainda mais expressivos (Quadro 15 e Gráfico 9). Entre as técnicas percutâneas com agulhas Tru-cut os resultados obtidos foram mais uniformes e bastante similares.

Esta equivalência estatística associadas à técnica PL e as demais técnicas percutâneas, bem como a relativa proximidade numérica entre seus valores médios, podem ser explicadas com base no critério adotado para a contagem das veias centrolobulares. Em tal contagem, além dos vasos íntegros, foram incluídas também porções seccionadas das veias. Desta forma, é provável que em muitas circunstâncias a maioria dos vasos contados nas amostras obtidas com a técnica PL eram vasos íntegros, diferente das amostras relacionadas com as demais técnicas percutâneas. Considerando o exposto, mesmo com números equivalentes,

o uso da técnica PL forneceu maior área de tecido para avaliação histológica do que as demais técnicas percutâneas. Esta afirmativa encontra sustentação ao se comparar o peso e o número de espaços-porta obtidos com a técnica PL com os resultados correspondentes obtidos com o uso das técnicas percutâneas.

Durante a avaliação deste parâmetro constatou-se, mais uma vez, que os meios de guiar as biópsias pouco influenciaram nos resultados das biópsias percutâneas, ao contrário do que se observou com o tipo de agulha empregada. O uso das agulhas Tru-cut garantiu a obtenção de amostras com número médio de veias centrolobulares equivalentes e mais uniformes do que com o uso das agulhas de Menghini.

Com exceção da MU, as demais técnicas percutâneas estiveram relacionadas com valores médios próximos de 12 veias centrolobulares. Na literatura consultada não existem relatos do uso deste tipo de aferição. Entretanto, há citação de contagem de número de lóbulos hepáticos nas amostras obtidas com o uso de agulhas Tru-cut 16G e de pinça laparoscópica de biópsia em caninos (Vasanjee et al., 2006). Os números observados pelos autores com a agulha Tru-cut e pinça laparoscópica foram $2,6 \pm 0,51$ e $6,3 \pm 0,66$, respectivamente. Embora não seja possível uma comparação exata já que na contagem de lóbulos são incluídas apenas as estruturas íntegras, é provável que os números observados no presente experimento sejam superiores ao relatado pelos autores, sobretudo, no que se refere à técnica PL, cuja maior parte das veias centrolobulares contadas estavam íntegras.

d. Espaços-porta

Entre as técnicas realizadas com agulhas Tru-cut ou com agulhas de Menghini os números médios de espaços-porta (Figura 18B) foram relativamente uniformes e não diferiram de forma significativa. Quando as duas categorias de técnica foram

comparadas, verificou-se a ocorrência de valores médios superiores para as técnicas executadas com agulhas de Menghini. Entretanto, foram observadas diferenças significativas somente entre as técnicas MU e ML e a TU, que apresentou menores contagens de espaços-porta. Embora tenha apresentado números médios bastante superiores aos das técnicas percutâneas, a técnica PL diferiu significativamente apenas das técnicas TU e TC (Tabela 2 e Gráfico 9). Classificada como incontáveis, a quantidade de espaços-porta observada com uso da técnica RL foi muito superior à contagem das demais técnicas.

Quando se dividiu o número médio de espaços-porta pelo número de tentativas não foram observadas diferenças estatísticas entre as biópsias percutâneas. Todavia, houve diferenças estatísticas entre a técnica PL e as demais biópsias percutâneas, com exceção da técnica ML. Mais uma vez os resultados associados ao uso das agulhas Tru-cut foram mais uniformes do que os observados com o emprego das agulhas de Menghini. Da mesma forma, exceto pelos maiores números associados com a técnica ML, houve equivalência entre os números médios ligados às biópsias percutâneas.

Ao confrontar este tipo de avaliação com a contagem de veias centrolobulares verifica-se que o número de espaços-porta é um parâmetro mais exato e representa melhor a quantidade de tecido obtido com as biópsias. Este fato é facilmente percebido quando se verifica a equivalência estatística entre o número de veias centrolobulares relacionados com a técnica PL e as técnicas percutâneas, mesmo quando há marcante diferença da quantidade de tecido recuperados com ambas as modalidades de biópsia. Há claramente um efeito que superestima a representatividade das amostras das biópsias percutâneas. Talvez este efeito pudesse ser minimizado com a contagem apenas dos vasos íntegros, porém aquele tecido próximo ao vaso seccionado

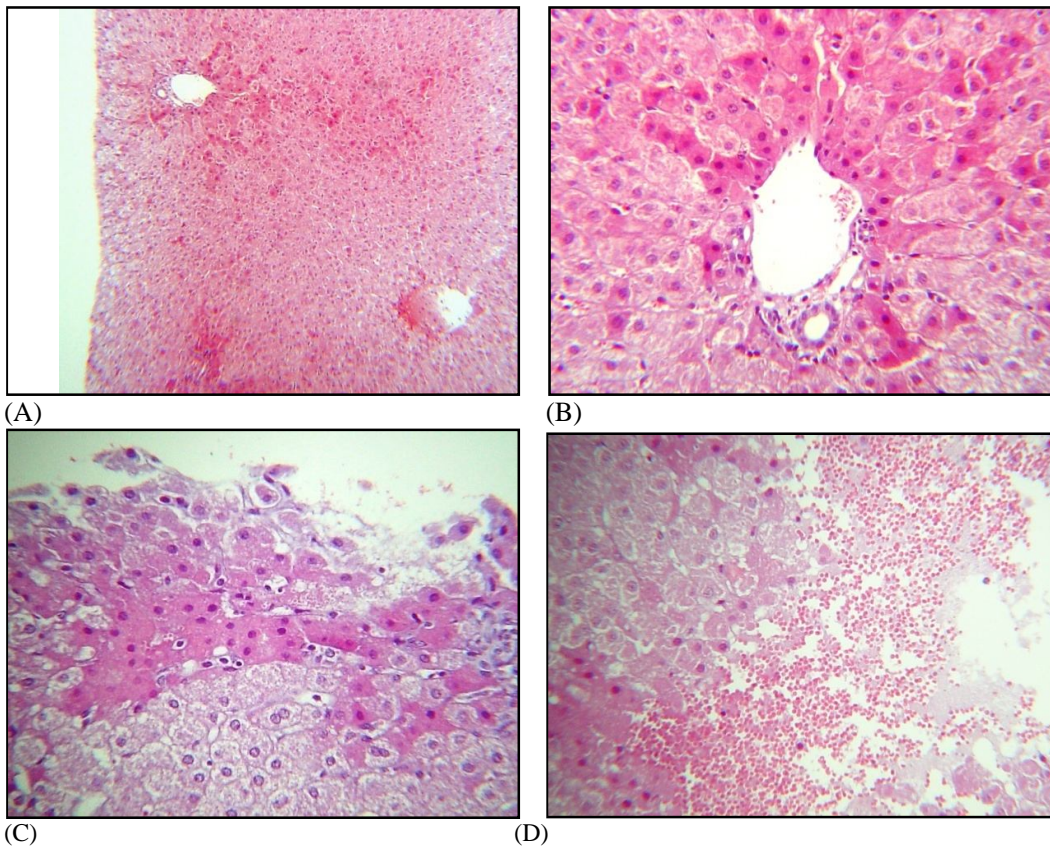


Figura 18. Aspecto histológico do tecido hepático de ovinos obtido através de biópsias. A. Margem de fragmento hepático apresenta espaço-porta e veia centrolobular HE, obj. 4x. B. Detalhe do espaço-porta HE, obj. 25x. C. Grupo de hepatócitos eosinofílicos, com citoplasma homogêneo e núcleos picnóticos HE, obj. 25x. D. Presença de fragmentação parcial e de hemorragia na amostra HE, obj. 25x.

não seria incluído na contagem e o efeito seria inverso, de subestimação. Como os espaços-porta ocupam uma área bem menor, os efeitos da secção ou da não contagem de espaços-porta provavelmente refletiriam menos na representatividade da amostra. Embora dentro do critério de contagem dos espaços-porta tenham sido contadas também as estruturas seccionadas, os números médios relacionados com as técnicas percutâneas foram bem superiores àqueles relatados na literatura. Entre o uso das técnicas TC, TU e TL a média das amostras recuperadas variou de 20 a 24 espaços-porta e entre o das técnicas MC e ML, a média

variou de 23 a 25. Por outro lado, em estudo comparativo em caninos em que não foram observadas diferenças estatísticas, os valores médios relacionados com as agulhas Tru-cut e Menghini foram 10,9 e 11,5, respectivamente (Tostes e Bandarra, 2002). Em outro estudo em caninos o uso de agulha Tru-cut esteve associado à média de 7,9 espaços, enquanto o emprego de pinça laparoscópica determinou na ocorrência 16,8 espaços em média (Vasanjee et al., 2006), um valor também inferior aos 38 espaços observados em média com o uso do mesmo tipo de instrumento no presente estudo.

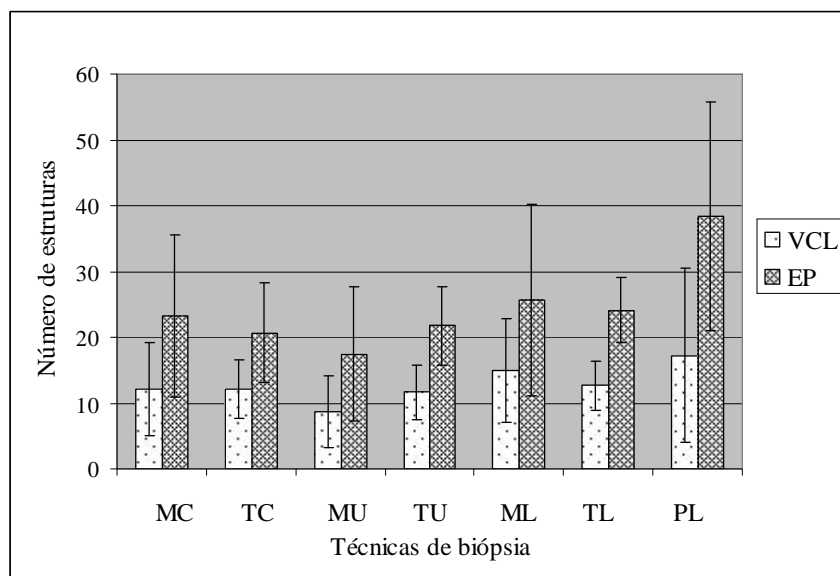


Gráfico 9. Número médio e desvio padrão de veias centrolobulares (VCL) e espaços-porta (EP) observados de acordo com a técnica de biópsia hepática. A técnica RL não consta neste gráfico.

Tabela 2. Comparação do número médio de veias centrolobulares (VCL) e de espaços-porta de acordo com a técnica de biópsia empregadas.

	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
Nº total VC	14,25 ^{ab}	13,25 ^{ab}	14,25 ^{ab}	11,625 ^a	19,5 ^b	13,625 ^{ab}	18,125 ^{ab}	Incontáveis
Nº VC/tentativas	12,084 ^a	12,13 ^a	8,67 ^a	11,625 ^a	14,938 ^a	12,688 ^a	17,25 ^a	Incontáveis
No total EP	27,5 ^{abc}	22,5 ^{ab}	30 ^{bc}	21,75 ^a	34,25 ^{bc}	26,625 ^{abc}	42,625 ^c	Incontáveis
No EP/tentativas	23,25 ^a	20,688 ^a	17,423 ^a	21,75 ^a	25,688 ^{ab}	24,063 ^a	38,438 ^b	Incontáveis

^aMédias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente (p<0,05).

Quadro 15. Intervalo de variação do número de veias centrolobulares e espaços-porta das amostras obtidas com apenas uma tentativa.

	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL
VCL	8 a 23	6 a 18	11 a 16	6 a 19	12 a 27	9 a 18	10 a 49
EP	18 a 38	8 a 34	19 a 33	13 a 28	19 a 53	17 a 33	23 a 78

Com base nos dados disponíveis verifica-se ainda que todas as técnicas estudadas estiveram associadas com a obtenção de amostras adequadas para avaliação histopatológica, já que alguns estudos apontam que são necessários pelo menos quatro (Tostes e Bandarra, 2002; Costa et al., 2005) ou 6 espaços-porta (Vasenjeet al., 2006) para que as amostras hepáticas sejam assim consideradas.

e. Qualidade da amostra

As amostras obtidas através das técnicas RL foram as únicas associadas com avaliação máxima em todas as repetições e estatisticamente equivalentes às técnicas PL e TL. Entre as técnicas percutâneas, houve uma maior tendência para melhores avaliações das amostras obtidas com agulhas Tru-cut do que com agulhas de Menghini. Mas as diferenças estatísticas foram identificadas apenas entre os resultados das técnicas TC e TL com os das técnicas MC e MU. Já as amostras obtidas com a técnica ML apresentaram avaliações estatisticamente similares ao daquelas recuperadas com agulhas Tru-cut (Quadro 16 e Tabela 3).

Embora tenha havido compressão da amostra durante a realização da técnica RL pela contenção do fragmento com pinça e incisão com tesoura, o grande volume de tecido obtido garantiu à técnica a melhor avaliação neste quesito. De maneira similar, a pressão sofrida pela amostra durante a

execução da técnica PL também não interferiu na qualidade da amostra. Entre as técnicas percutâneas a tendência de melhores resultados para aquelas realizadas com agulhas Tru-cut provavelmente tem relação com o mecanismo de corte destas agulhas, que aparentemente exerce menor efeito sobre a amostra do que método aspirativo em que a amostra é exposta à pressão negativa. Neste sentido já foi relatado que o uso excessivo de pressão durante procedimentos aspirativos pode danificar a amostra (Buckley et al., 1986). Além disso, os resultados comparativamente melhores das agulhas Tru-cut já eram esperados, uma vez que tais dispositivos semi-automáticos tem sido relacionados com amostras de alta qualidade (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995), com menor fragmentação da amostra, com bordos mais bem definidos e menor formação de artefatos por compressão do que as agulhas com mecanismo totalmente manual (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

A equivalência estatística observada entre a qualidade das amostras das técnicas TL com RL e da ML com todas as técnicas associadas ao uso de agulhas Tru-cut, indicam que o uso da videolaparoscopia pode ter influenciado diretamente no melhor desempenho observado com o emprego dos dois tipos de agulha.

Tabela 3. Comparação entre parâmetros qualitativos das amostras de acordo com a técnica de biópsia hepática.

	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
Qualidade	ab	bc	a	abc	abc	cd	cd	d
Fragmentação parcial	b	b	b	b	b	ab	a	a
Grupos de hepatócitos eosinofílicos	a	a	a	a	a	a	a	a
Hemorragia	a	a	a	ab	a	a	a	b

^aLetras iguais na mesma linha não diferem significativamente (p<0,05).

Quadro 16. Qualidade e grau de fragmentação parcial das amostras obtidas através de biópsias hepáticas.

		Animais	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
Qualidade das amostras		39	++ ¹	++	++	++(+)	+(+)	++(+)	+++	+++
		100	++(+)	+++	++	++	++	+++	+++	+++
		101	+	++(+)	++(+)	++(+)	++	+++	+++	+++
		102	++(+)	++(+)	+	++(+)	+(+)	++(+)	++	+++
		103	++(+)	++(+)	+(+)	+++	+++	+++	+++	+++
		109	++(+)	++(+)	++(+)	+++	++(+)	+++	++(+)	+++
		132	+++	+++	++	+(+)	++(+)	++(+)	+++	+++
		146	+(+)	+++	+(+)	++(+)	+++	+++	+++	+++
Fragmentação parcial das Amostras		39	++ ²	+(+)	++	(+)	+(+)	+	(+)	-
		100	+(+)	+	+	+	+(+)	+(+)	-	(+)
		101	+++	(+)	(+)	+	+	(+)	-	-
		102	(+)	+	+(+)	+	+++	+	(+)	(+)
		103	+	(+)	++	+	++	-	(+)	-
		109	+(+)	(+)	(+)	(+)	+	-	(+)	+
		132	-	(+)	+	++	++	++	(+)	+
		146	+++	+(+)	++	(+)	(+)	-	-	-

1. +++ muito boa; ++ regular; + ruim, (+) qualidade intermediária.

2. +++ grande quantidade; ++ quantidade moderada; + pequena quantidade, (+) quantidade intermediária; - ausente.

Quadro 17. Presença de grupos de hepatócitos eosinofílicos e hemorragia nas amostras obtidas através de biópsias hepáticas.

	Animais	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
Presença de grupos de hepatócitos eosinofílicos	39	+ (+) ¹	+	++	+ (+)	+ (+)	+	++	++ (+)
	100	+	+ (+)	+	+	+	+ (+)	+ (+)	++
	101	+ (+)	(+)	-	+ (+)	+	+	+	(+)
	102	+	+	++	+ (+)	+	+ (+)	+ (+)	++
	103	+	(+)	++ (+)	+	+ (+)	+	(+)	+
	109	++	+ (+)	(+)	+	+ (+)	+	(+)	+ (+)
	132	+	++	+	+ (+)	+ (+)	+ (+)	+++	++
	146	++	(+)	+++	+	++	+	++	+
Presença de hemorragia	39	- ¹	-	-	-	-	(+)	-	-
	100	(+)	+	-	(+)	-	+	-	++
	101	(+)	-	-	-	-	-	-	+ (+)
	102	-	-	(+)	-	-	-	-	+
	103	-	-	(+)	-	+	-	-	(+)
	109	-	-	-	(+)	-	-	-	+
	132	-	-	-	+	-	-	+	(+)
	146	-	-	(+)	-	-	-	-	+

1. +++ grande quantidade; ++ quantidade moderada; + pequena quantidade, (+) quantidade intermediária; - ausente.

f. Artefatos

No quesito fragmentação parcial das amostras (Figura 18D), as técnicas PL e RL foram relacionadas com avaliações estatisticamente menores e, portanto, apresentaram o melhor desempenho frente às demais (Quadro 16 e Tabela 3). As técnicas conduzidas com agulhas Tru-cut foram equivalentes entre si e associadas com graus menores de fragmentação das amostras do que com aquelas realizadas com agulhas de Menghini, porém não diferiram estatisticamente. Como a fragmentação parcial da amostra tem grande influência na qualidade da amostra, os resultados disponíveis são semelhantes, tanto no que se refere ao melhor desempenho das técnicas PL e RL, bem como na melhor eficiência das agulhas Tru-cut. Novamente também o uso da videolaparoscopia parece ter influenciado no melhor resultado relacionado à técnica TL (Quadro 16 e Tabela 3).

Quanto à presença de grupos de hepatócitos eosinofílicos (Figura 18C), células em processo degenerativo, com citoplasma mais uniforme e eosinofílico e núcleo com cromatina condensada, houve relativa uniformidade e igualdade estatística entre as amostras com todas as técnicas de biópsia empregadas (Quadro 17 e Tabela 3). Este achado pode indicar que o efeito compressivo sobre as amostras foi uniforme ou interferiu pouco na ocorrência destes grupos de hepatócitos. Resultados equivalentes também foram observados em estudo onde foi confrontado o efeito de esmagamento em milímetros entre o uso das agulhas Tru-cut e da pinça laparoscópica de biópsia (Vasanjee et al., 2006).

Já durante a avaliação do grau de hemorragia (Figura 18D) nas amostras ficou evidente as maiores gradações relacionadas com a técnica RL, com resultados estatisticamente superiores aos das demais técnicas, com exceção do grau relacionado com a técnica TU (Quadro 17 e Tabela 3). É

provável que esta maior ocorrência de hemorragia frente ao uso da técnica RL esteja associada com a secção de vasos sanguíneos de maior calibre do que com as outras técnicas.

4.2. BIÓPSIA RENAL

4.2.1. Exame clínico

Foram observadas alterações clínicas nos animais em 5 dos 27 procedimentos realizados. Em duas ocorrências (animal 7 e 8) observou-se apenas leve aumento da temperatura no primeiro dia pós-biópsia (Quadro 18). Em outro animal (animal 1), além da febre transitória, verificou-se congestão discreta das mucosas e leve diminuição dos movimentos ruminais. Nestes três casos os sinais cessaram em um ou dois dias. Já um quarto animal (número 7) apresentou um quadro de indigestão ruminal que perdurou por oito dias, com início na primeira e término na segunda semana de experimento. A sua recuperação coincidiu com a retirada de concentrado da dieta e transfusão de um litro de fluido ruminal via sonda nasogástrica.

Apenas um animal apresentou sinais clínicos significativos relacionados com complicações das biópsias renais. Um dia após a biópsia TK, o animal dois demonstrou inquietação, anorexia, dorso arqueado, contrações periódicas do abdome e estrangúria. A sondagem rígida revelou uma obstrução uretral por coágulo sanguíneo e grande volume de urina marrom escura. Imediatamente após a sondagem, o animal apresentou apetite e apenas sinais clínicos discretos de pequeno significado nos dias subsequentes (quadro 18). O exame ultrasonográfico do rim direito no primeiro dia pós-biópsia demonstrou desorganização do parênquima renal, com pobre visualização das estruturas medulares e área com aparência disforme hipoecóica circundada por estrutura hipercóica irregular sobre

grande extensão da área medular, compatível com hemorragia e necrose tecidual, respectivamente (Figura 19).

Com base nos resultados obtidos verificou-se que a biópsia renal seriada pode ser conduzida com poucas complicações pós-cirúrgicas. Além do pequeno número de casos, as alterações clínicas observadas foram na maior parte das pouco relevantes ou não relacionadas com o procedimento, como no caso da indigestão ruminal observada no animal 7. Em apenas uma circunstância houve complicação significativa relacionada com a técnica TK, com obstrução do fluxo urinário por coágulo sanguíneo (animal 2). Casos de obstrução uretral como esse não têm sido descritos na literatura consultada. Os relatos disponíveis incluem as obstruções da bexiga e ureteres (Osborne et al., 1996), mas estão relacionados principalmente com a obstrução da pelve renal (Jeraj et al. 1982; Osborne et al., 1996), inclusive como causa de hidronefrose, e tem sido prevenida através da administração de solução fisiológica antes e durante o procedimento (Jeraj et al. 1982). Embora tenha sido utilizada neste estudo a mesma quantidade de fluido descrita em estudos de caprinos (Wisloff et al., 2003), a administração de 500ml de soro fisiológico e de furosemida não foi capaz de evitar esta obstrução. As lesões renais detectadas através da ultrasonografia ficaram limitadas ao local da biópsia, localizadas no pólo caudal do rim direito. Não houve evidência de dilatação da pelve renal ou sinais de hidronefrose.

Dentre os estudos de biópsia renal, realizados em animais de produção, são descritos dois casos de morte. Um bovino por hemorragia não corrigível (Chiesa et al., 2006) e um búfalo em função de peritonite (Ramkumar et al., 1972). No primeiro caso o animal foi submetido à biópsia seriada através de videolaparoscopia, e no segundo o animal morreu após a 2ª biópsia renal cirúrgica. Neste último estudo a principal

alteração clínica observada foi leve hipertermia em quase todos os animais. Em outros artigos correspondentes não houve descrições de complicações clínicas significativas (Garner et al., 1968; Osborne et al., 1968; Mitchell e Williams, 1975; Naoi et al., 1985).

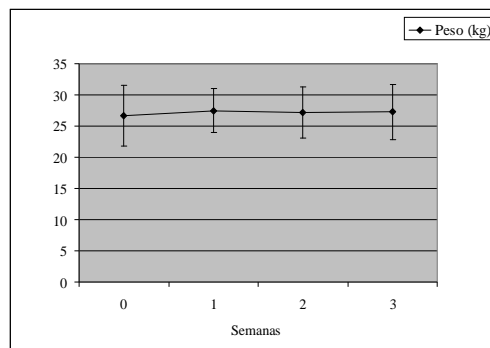


Gráfico 10. Peso médio e desvio padrão dos ovinos antes de cada procedimento de biópsia renal e ao final do experimento (3ª semana).

No decorrer do experimento o peso médio dos animais permaneceu estável, sem evidência de perda de peso (Gráfico 10). Todavia, também não houve ganho de peso no período. As causas mais prováveis para esta manutenção do peso por três semanas consecutivas foram a rotina estressante de exame clínico diário e a colheita de urina através da administração de furosemida, bem como a qualidade regular do capim elefante fornecido aos animais. De qualquer forma não há como descartar possíveis interferências do procedimento de biópsia nestes resultados, uma vez que não foi utilizado um grupo controle para avaliar este parâmetro.

4.2.2. Sedação e analgesia

O protocolo anestésico empregado permitiu manipulação cirúrgica adequada e pronta recuperação dos animais, mesmo nos procedimentos que envolveram as técnicas “keyhole” (TK) e a videolaparoscópica (PL).

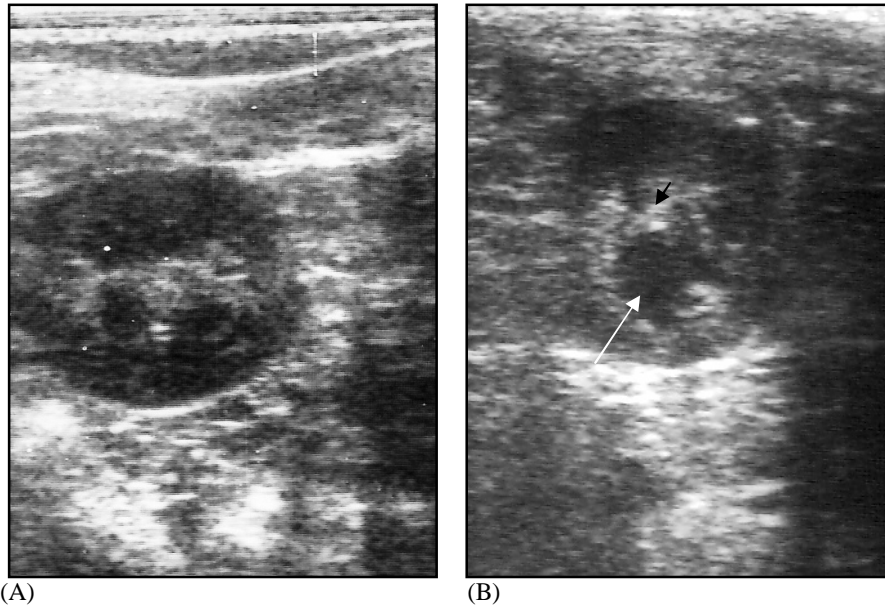


Figura 19. Aspectos ultra-sonográficos da lesão renal causada pela técnica TK no animal 2. Imagens transversais do pólo caudal do rim direito (transdutor linear de 5 MHz). A. Aspecto ultra-sonográfico normal. B. Ultra-sonografia do animal 02: desorganização do parênquima renal, com pobre visualização das estruturas medulares. Estrutura hipercóica irregular, com bordos pouco definidos e de diferentes espessuras (seta preta), circunda área disforme hipocóica (seta branca), ocupa a maior porção da área medular e comprime ventralmente o córtex renal.

Diferente do que foi relatado para cães e gatos (Jeraj et al., 1982; Osborne et al., 1996), a incisão do peritônio durante o procedimento da técnica TK apenas com infiltração de anestésico local não resultou em manifestações de dor pelo animal, relacionadas com inquietação, movimentação imprevisível do tórax e abdome ou vocalização.

Este fato demonstra, conforme metodologia similar descrita por outros autores, que intervenções sobre o rim de ruminantes não demandam o uso de anestesia geral, sejam através de biópsias cirúrgicas (Ramkumar et al., 1972) ou percutâneas (Osborne et al., 1968). Embora a anestesia geral tenha sido empregada em estudos de biópsia renal cirúrgica em ovinos (Angus et al., 1974; Mitchell e Williams, 1975) e bovinos (Garner et al., 1968), o uso deste tipo de

protocolo anestésico em pequenas intervenções como a técnica “keyhole” parece ser excessivo. Além disso, é sabido que entre os ruminantes evita-se na maior parte das intervenções cirúrgicas o uso destes protocolos já que estão associadas, sobretudo, com a ocorrência de regurgitação e aspiração de conteúdo ruminal.

O protocolo anestésico adotado neste estudo para intervenções videolaparoscópicas foi similar ao relatado em outros artigos de biópsia renal em bovinos (Naoi et al., 1985; Chiesa et al., 2006). As pequenas diferenças encontradas foram a não utilização de sedativos em um estudo (Naoi et al., 1985) e a associação de sedativo com tranquilizante e tartarato de butorfanol em outro artigo (Chiesa et al., 2006).

Quadro 18. Achados clínicos observados nos animais em 5 dos 27 procedimentos realizados, em seis dias subsequentes, de acordo com a técnica de biópsia renal, a semana do experimento em que foi realizada e o número de tentativas executadas.

Animal	Semana	Técnica	Tentativas	Dias após as biópsias					
				01	02	03	04	05	06
1	2	TK	2	–	↑FC ¹ + ² ; ↑T ^o +; Mu.cong(+)	Mu.cong (+); ↓MR +	–	–	–
2	3	TK	3	↑FC +; Inquiet ++(+); D.arq; Cont.ab; Anrx; Estrg; Dor.ab; <V.ab	↑T ^o +; ↓MR (+)	Polaq	–	–	–
7	1	PL	1	–	–	Inpt ++; ↓MR++(+)	Inapt ++; ↓MR++; Desid	Inapt++; ↓MR++; <V.ab++; Desid	Inapt +; ↓MR+(+); <V.ab++; Desid
7	2	TK	1	³ Inapt +; ↓MR+(+); <V.ab++; Emag ++	Inapt +; ↓MR +; <V.ab +; S.sist ++	↓MR +; <V.ab +; S.sist++;	↓MR +; <V.ab +	–	–
7	3	TU	3	↑T ^o +	–	–	–	–	–
8	3	TK	1	↑T ^o +	–	–	–	–	–

1 – Abreviações: ↑**FC** taquicardia; ↑**T^o** hipertermia; **Mu.cong** mucosas congestionadas; ↓**MR** movimentos ruminais fracos; **Inquiet** inquietação; **D.arq** dorso arqueado; **Cont.ab** contrações abdominais; **Anrx** anorexia; **Estrg** estrangúria; **Dor.ab** dor abdominal; <**V.ab**< menor volume abdominal; **Polaq** pólaquiúria; **Inapt** inapetência; **Emag** emagrecimento; **S.sist** sopro sistólico; **Desid** desidratação

2 – Intensidade dos sinais clínicos: + leve; ++ moderado; +++ acentuado; (+) intensidade intermediária; – ausente.

3 – Animal foi submetido ao segundo procedimento de biópsia mesmo apresentando sinais clínicos citados.

4.2.3. Patologia clínica

a. Uréia e creatinina

Durante as três semanas de experimento observou-se que em quatro ocorrências os valores sequenciais de uréia de animais distintos se destacaram da tendência observada para a maioria dos animais, com níveis acima de 60mg/dl. Verificou-se elevação bastante marcada da uréia do animal sete por oito dias consecutivos, com níveis acima de 200mg/dl por quatro dias. Já o animal número um apresentou elevação menos marcada, com níveis de uréia entre 100 e 120mg/dl, por dois dias consecutivos. Outros dois animais, número 2 e 8, apresentaram níveis transitórios acima de 60mg/dl na última semana de experimentação. Nos demais animais, entretanto, os níveis de uréia oscilaram entre 20 e 60mg/dl, com a maior parte situados entre 40 e 60mg/dl (Gráfico 11).

Os valores de creatinina seguiram uma tendência similar ao observado na avaliação da uréia. Entretanto, somente os valores de três animais (1, 4 e 7) se destacaram dos demais e ultrapassaram o nível de 2mg/dl. A maioria dos animais manteve valores de creatinina próximos ou abaixo de 1mg/dl. O período e intensidade da elevação dos níveis de creatinina dos animais um e sete coincidiu amplamente com os valores de uréia observados para os mesmos animais (Gráfico 12). Por outro lado, a elevação da creatinina acima de 2mg/dl teve duração de um dia e ocorreu de forma isolada no animal número quatro, sem aumento correspondente de uréia.

As alterações de uréia e creatinina observadas aparentemente não tiveram relação com a realização dos procedimentos de biópsia renal. A manutenção dos níveis de uréia acima do nível de referência, 18 a 31mg/dl (Meyer et al., 1995), na maioria dos animais avaliados provavelmente foi determinada por causas extra-renais. Dentre elas pode-se destacar como mais provável o nível de proteína do concentrado fornecido

aos animais. Foram administrados diariamente cerca de 600g/dia/animal de uma ração com 18% de proteína bruta. Estudos a este respeito apontam que a produção de uréia hepática aumenta à medida que se eleva o aporte protéico da dieta. Caso a quantidade de aminoácidos disponíveis exceda as necessidades do animal, esse excesso será desaminado no fígado para ser utilizado em processos de neoglicogênese e lipogênese e as aminas resultantes dão origem à uréia (Thrall, 2007). Esta hipótese de causa extra-renal é corroborada pela observação corresponde de níveis normais de creatinina, já que a creatinina não sofre influências extra-renais relacionadas com o maior aporte de aminoácidos como ocorre com a uréia. A razão disto é que esta substância é formada a partir do catabolismo da creatina muscular e a sua produção diária é relativamente constante (Thrall, 2007).

Da mesma forma, os dados coincidentes entre uréia e creatinina observados nos animais número um e sete, indicaram possivelmente uma menor taxa de filtração glomerular determinada por hipovolemia. Ambos os animais manifestaram distúrbios clínicos em período correspondente (Quadro 18). O animal um apresentou manifestação clínica mais discreta e passageira, já o animal sete permaneceu enfermo por um período mais prolongado, exibiu sinais clínicos de desidratação e aumento do percentual de hematócrito. Tais distúrbios que cursam com desidratação figuram entre importantes causas pré-renais de decréscimo da taxa de filtração glomerular, que ampliam os valores tanto da uréia como da creatinina (Thrall, 2007) na ausência de qualquer comprometimento dos rins.

No animal dois que sofreu obstrução do trato urinário a única variação observada foi a elevação da uréia para valores em torno de 70mg/dl 24 horas depois da biópsia. Este aumento discreto não persistiu após a desobstrução da uretra, e não teve relação

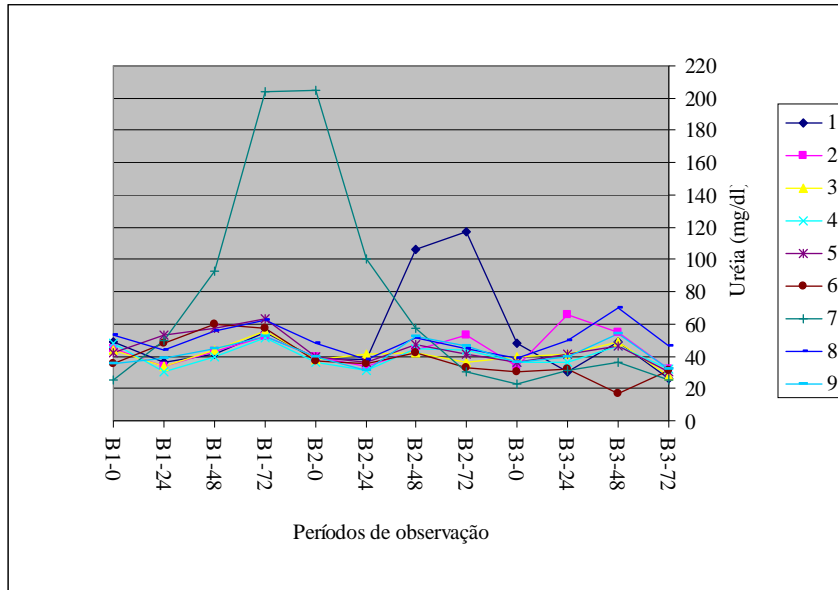


Gráfico 11. Valores individuais de uréia (mg/dl) no decorrer do experimento de biópsia renal. B1, B2 e B3 correspondem às técnicas de biópsia executadas de acordo com ordenação por sorteio. 0, 24, 48 e 72 indicam as horas após os procedimentos em que os níveis séricos foram aferidos. A seqüência individual das técnicas está disponível no quadro 12.

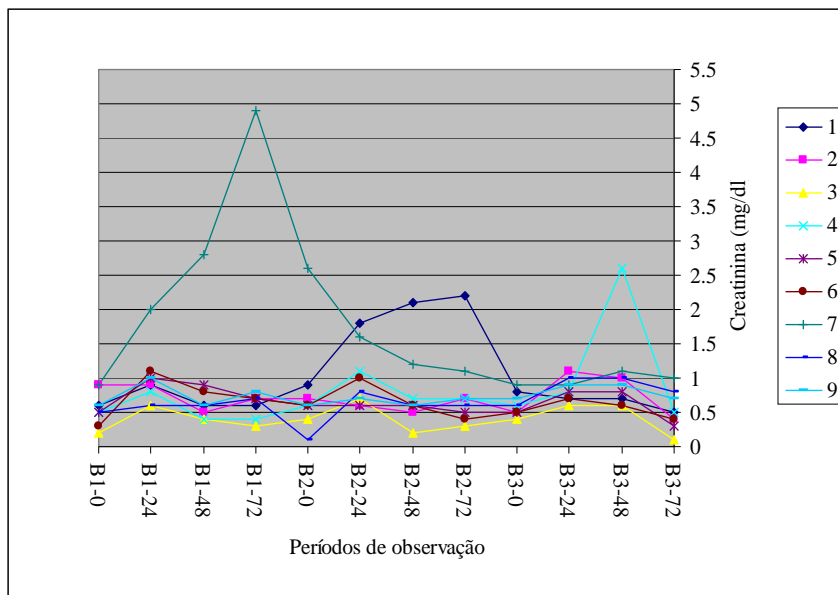


Gráfico 12. Valores individuais de creatinina (mg/dl) no decorrer do experimento de biópsia renal. B1, B2 e B3 correspondem às técnicas de biópsia executadas de acordo com ordenação por sorteio. 0, 24, 48 e 72 indicam as horas após os procedimentos em que os níveis séricos foram aferidos. A seqüência individual das técnicas está disponível no quadro 12.

com elevações significativas da creatinina. Já um aumento pontual da creatinina observado no animal quatro não mostrou qualquer associação com elevações da uréia ou com alterações clínicas, e provavelmente podem ter sido o resultado de erros de análise.

b. Hematologia

A contagem do número de eritrócitos e os valores do hematócrito variaram pouco durante o experimento. O número médio de eritrócitos oscilou entre 12 e 14 ($\times 10^6/\mu\text{l}$), e os valores médios do hematócrito entre 30 e 33% (Gráfico 13A e B). Houve também pequena variação na contagem média do número de leucócitos, exceto por uma elevação acima de 15 ($\times 10^3/\mu\text{l}$) após a última semana (Gráfico 13C). Apesar da contagem média de plaquetas ter permanecido entre 300 e 400 ($\times 10^3/\mu\text{l}$) na maior parte do experimento, o número médio da última aferição foi levemente maior que 200 ($\times 10^3/\mu\text{l}$). Além disso, a variação em torno da média foi muito expressiva em todas as contagens semanais (Gráfico 13D).

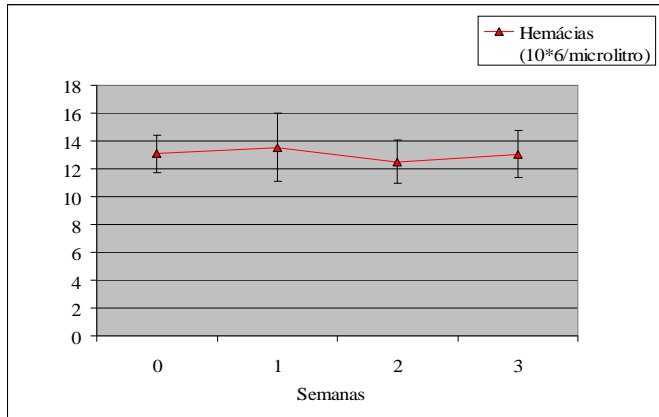
Assim como observado em outros estudos de biópsia renal em bovinos (Naoi et al., 1985) e bubalinos (Ramkumar et al., 1972), não houve no presente experimento alterações relevantes de parâmetros hematológicos. Tanto o hematócrito como a contagem de hemácias permaneceram estáveis durante o experimento e dentro dos limites de referência para a espécie, 27 a 45% e 9 a 15 ($\times 10^6/\mu\text{l}$), respectivamente. Além disso, foram observadas leve leucocitose e discreta trombocitopenia após a realização da última biópsia. As razões para ambos resultados e as oscilações entre os valores da contagem de plaquetas não são completamente claras, mas ao que tudo indica, podem ser a consequência de erros inerentes à contagem automática. Tanto o uso de EDTA como anticoagulante, como o atraso acima de seis horas para a análise podem promover a aglomeração de

plaquetas e estes aglomerados podem ser incluídos na contagem total de leucócitos. Neste caso, ao mesmo tempo em que diminui de forma artificial o número de plaquetas, este efeito também superestima a contagem de leucócitos (Knoll, 2000).

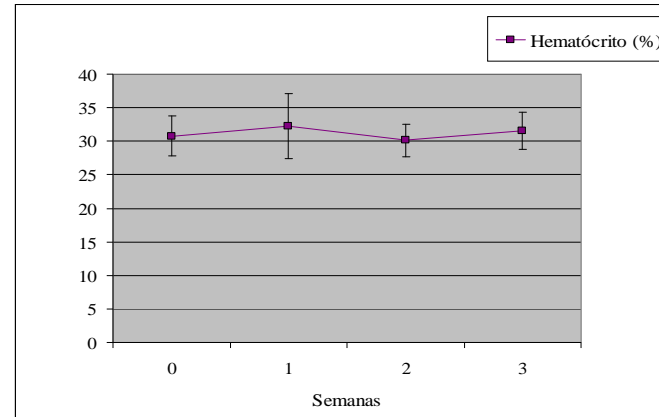
De qualquer forma, durante o experimento não foram realizados testes prévios de coagulação sanguínea, como preconizam alguns autores (Osborne et al., 1996) como forma de prevenir as hemorragias excessivas, a principal complicação associada a qualquer tipo de biópsia (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). Em lugar disso, o critério adotado foi monitorar a contagem de plaquetas e o hematócrito dos animais biopsiados, já que fortes evidências apontam haver uma correlação entre a presença de trombocitopenia e de anemia com a ocorrência de hemorragias excessivas com necessidade de terapia de suporte (Bigge et al., 2001).

c. Urinálise

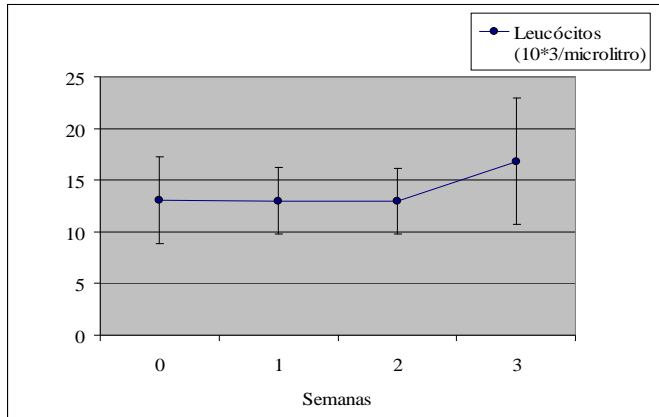
No presente estudo, das 27 biópsias renais realizadas houve hematúria em 11 procedimentos. Quatro foram macroscópicas (Figuras 20 A a C) e sete foram microscópicas. Entretanto, em seis destes casos a hematúria foi observada no período imediato à realização da biópsia. Nos demais a ocorrência de hematúria se estendeu por três a dez dias (Quadro 19). O caso mais prolongado ocorreu no animal dois, que sofreu obstrução uretral por coágulo sanguíneo e manifestou sinais de estrangúria (Figura 20 D). A técnica de biópsia TK esteve associada à maior ocorrência de hematúria. Dos seis casos de hematúria observados, quatro tiveram longa duração e em três houve hematúria macroscópica. O uso da técnica de biópsia renal PL, por outro lado, determinou a ocorrência de hematúria em três circunstâncias, todas transitórias e de baixa intensidade. Já a biópsia guiada por ultra-som (TU) foi associada à ocorrência de hematúria em apenas uma ocasião.



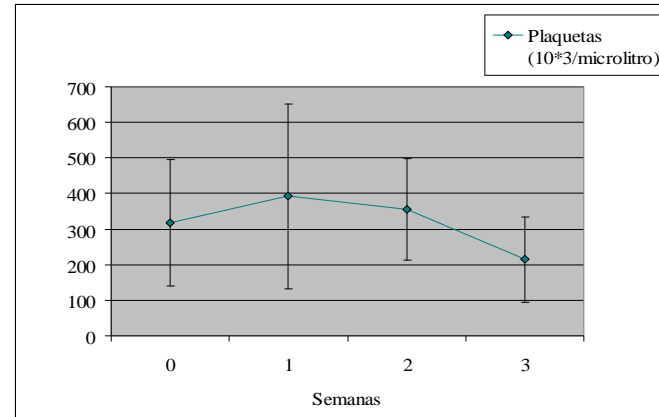
(A)



(B)



(C)



(D)

Gráfico 13. Valores médios e desvio padrão da hematimetria dos animais, aferidos um dia antes (0) e durante a primeira, segunda (2) e terceira semanas de experimentação. A. Número de hemácias ($X10^6/\mu\text{l}$). B. Hematócrito (%). C. Número de leucócitos ($X10^3/\mu\text{l}$). D. Número de plaquetas ($X10^3/\mu\text{l}$).

Todavia, a hematúria foi intensa, macroscópica no período imediato e microscópica por mais 4 dias.

A ocorrência de um grande número de casos de hematúria é um achado comumente encontrado nos trabalhos correspondentes em diversas espécies (Nash et al., 1983; Naoi et al., 1985; Brow e Baird, 1988; Osborne et al., 1996) (Quadro 7). Assim como descrito (Osborne et al., 1996) as hematúrias microscópicas ocorreram neste experimento em um grande número de ocasiões, mas em número menor do que o registrado em outros trabalhos realizados em bovinos (Osborne et al., 1968; Naoi et al., 1985). Já as hematúrias macroscópicas consideradas menos comuns, ocorreram em cerca de 14% dos procedimentos, um número bastante acima dos 3% relatados por Osborne et al (1996). Tanto as hematúrias macroscópicas quanto as microscópicas apresentaram caráter auto-limitante, conforme relatado por Osborne et al. (1996), porém a presença de hematúria foi mais prolongada nos casos em que havia alteração macroscópica da urina desde o início.

Embora não tenha sido relatado em outros artigos (Nash et al., 1983; Osborne, 1971; Jeraj et al., 1982), a ocorrência e a gravidade das hematúrias estiveram relacionadas com a presença de epitélio de transição na amostra recuperada. Das três vezes em que foi identificado tal epitélio houve hematúria macroscópica em duas circunstâncias e hematúria microscópica intensa em outra, por três dias consecutivos. Já a presença de tecido medular e de arteríolas arciformes nas amostras aparentemente não interferiu de forma direta na ocorrência da hematúria. Apesar de presentes em 8 dos 11 casos de hematúria registrados, a ocorrência de tecido medular e de arteríolas arciformes foi observada em sete casos em que não houve hematúria. Além disso, em três circunstâncias em que houve hematúria, inclusive em um caso de hematúria macroscópica, não foram identificados nem

tecido medular nem tampouco a presença de arteríolas arciformes. Neste caso específico de hematúria macroscópica, foram realizadas três tentativas para obtenção da amostra. Portanto, em uma delas pode ter havido lesão de estruturas mais profundas como a pelve renal.

O fato da técnica TK ter sido relacionada com maior número e gravidade dos casos observados de hematúria provavelmente teve relação com a manipulação renal e com dificuldades em manter o curso da agulha

distante da região medular e da pelve renal. As possíveis aderências formadas em procedimentos anteriores podem ter sido rompidas durante a manipulação renal e a presença de epitélio de transição e de tecido medular em uma boa parte das amostras indicaram que o curso da agulha não foi corretamente direcionado em algumas ocasiões.

Já o uso das técnicas TU e PL foi aparentemente mais eficiente em evitar a lesão de estruturas mais profundas do parênquima renal. O limite de profundidade imposto pelo tipo de pinça laparoscópica promoveu a colheita de amostras mais superficiais, com pouco tecido medular na maioria das vezes, sem qualquer envolvimento da região da pelve renal. Por outro lado, embora o uso da TU tenha promovido um caso de hematúria macroscópica com envolvimento da pelve renal no trajeto da agulha, a técnica não esteve associada a outro episódio de hematúria. Este fato demonstra que o monitoramento do trajeto da agulha através da ultra-sonografia evitou na grande maioria das vezes que fossem lesadas estruturas renais mais profundas.

O número de tentativas para obtenção da amostra também teve relação com a gravidade das hematúrias.

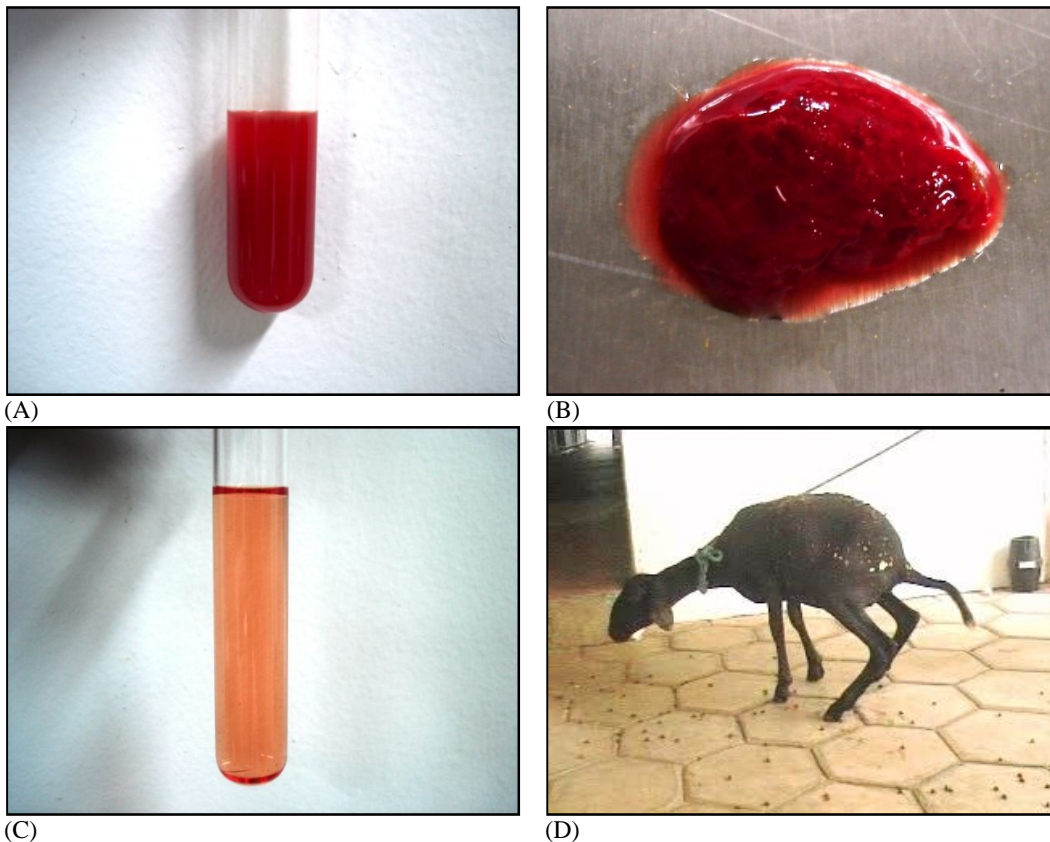


Figura 20. Aspecto macroscópico das hematúrias e posicionamento do animal dois com estrangúria. A. Aspecto da urina do animal 8 após a execução da técnica TU. B. Coágulo sangüíneo na urina do animal 8, na mesma ocasião. C. Coloração da urina do animal 9 logo após a realização da técnica de biópsia TK. D. Sinais de estrangúria do animal 2. Postura de micção ininterrupta sem eliminar urina.

Nas hematúrias mais intensas e prolongadas foram utilizadas um número de duas ou três tentativas para obtenção das amostras. No entanto, o uso de apenas uma tentativa não determinou a ocorrência de hematúria além do período imediato pós-biópsia, nem tampouco resultou em aparecimento de hematúria macroscópica.

4.2.4. Execução das técnicas

A principal dificuldade encontrada durante os procedimentos de videolaparoscopia foi a perfuração da bolsa omental. Tal fato impediu a realização da técnica PL e resultou em acréscimo considerável ao tempo de cirurgia, uma vez que houve a necessidade de se repetir os procedimentos

iniciais em todos os casos. Esta complicação e suas implicações foram relatadas em outros estudos laparoscópicos realizados em ovinos (Phillippo, 1973; Hidioglou e Ivan, 1993). Além disso, em virtude da quantidade de gordura peri-renal presente em alguns animais, houve a necessidade de dissecar uma camada de tecido adiposo para que se tivesse acesso ao órgão. Complicações semelhantes também foram observadas em estudo correspondente em bovinos (Chiesa et al., 2006). De acordo com estes autores uma forma eficiente de prevenir este tipo de complicação seria seleção de animais mais leves, abaixo de 300kg, que sabidamente apresentariam menor teor de gordura peri-renal.

Quadro 19. Observação de hematúria em ovinos de acordo com a técnica de biópsia, o número de tentativas e avaliação histológica das amostras renais.

Execução das técnicas			Avaliação histológica da amostra			Hematúria no período imediato à biópsia (0) e nos dias subsequentes						
Animais	Técnica biópsia	Tentativas	Tecido medular	Tecido da pelve renal	Arteríolas arciformes	0	1	2	3	4	5	6
1	TU ¹	2	-	- ⁸	3	-	-	-				
	TK	2	+++	-	1	H	+ ²	++	+	-	-	
	PL	1	+	-	1	+	-	-				
2	TU	1	+(+)	-	-	-	-	-				
	PL	1	-	-	-	+	-	-				
	TK	3	+	Presente	1	++	H ⁶	H	++	+	+	+ ⁷
3	TK	1	+	-	1	++/+++ ³	-	-				
	PL	1	++(+)	-	1	-	-	-				
	TU	1	-	-	-	-	-	-				
4	TK	1	-	-	-	-	-	-				
	TU	2	-	-	-	-	-	-				
	PL	1	-	-	-	-	-	-				
5	TK	1	-	-	-	+/>++	-	-				
	TU	2	-	-	-	-	-	-				
	PL	1	-	-	-	-	-	-				
6	PL	1	+	-	3	+	-	-				
	TK	1	-	-	-	-	-	-				
	TU	2	-	-	-	-	-	-				
7	PL	1	++	-	2	++	-	-				
	TK	1	++	-	-	-	-	-				
	TU	3	+++	-	3	-	NR ⁵	-				
8	TU	2	++	Presente	-	H ⁴	++	++	+	+	-	-
	PL	1	-	-	-	-	-	-				
	TK	2	+	Presente	-	++/+++	+	++	-	-		
9	PL	2	+	-	2	-	-	-				
	TU	2	-	-	-	-	-	-				
	TK	3	-	-	-	H	++	++	-	-		

1. Técnicas de biópsia renal dispostas na coluna de acordo com a ordem de execução. **2.** Hematúria microscópica: + (5-10 hemácias por μ l); ++ (50 hemácias por μ l); +++ (300 hemácias por μ l). **3.** Presença de dois pequenos coágulos sanguíneos na urina com aspecto macroscópico normal. **4.** Hematúria macroscópica. Neste animal a urina apresentava coloração avermelhada intensa com presença de grande coágulo sanguíneo. **5.** Exame não realizado. **6.** Urina com coloração marrom escura. **7.** Apresentou hematúria microscópica (+) por mais três dias (D7-D9). A hematúria cessou nos dias subsequentes (D10 e D11). **8.** Ausentes.

As hemorragias observadas no presente estudo com uso da técnica PL foram excessivas em apenas uma ocasião em que houve necessidade de compressão do ponto de biópsia com a pinça laparoscópica. Na grande maioria dos procedimentos, as hemorragias foram de baixa intensidade e nenhuma medida de hemostasia foi utilizada, como descrito por Naoi et al (1985). Por outro lado, nos estudos conduzidos por Chiesa et al (2006) os procedimentos de hemostasia não foram empregados apenas em alguns casos. Na maioria das circunstâncias foi utilizada a compressão direta com a pinça laparoscópica, enquanto nos casos mais severos foi necessário o uso de electrocauterização ou aplicação de cliques. Mesmo assim, o autor relata que um animal apresentou hemorragia severa e morreu 12 horas após o terceiro procedimento.

Durante a realização das biópsias guiadas por ultra-sonografia houve dificuldades em algumas ocasiões em detectar o curso e a profundidade da agulha no momento do disparo do dispositivo semi-automático da agulha Tru-cut. Nestas circunstâncias o disparo do dispositivo era acionado à medida que se verificava a movimentação do órgão, decorrente da penetração da agulha, sem que houvesse plena definição do trajeto da agulha. Estes fatores provavelmente favoreceram a ocorrência de fragmentos menores e das falhas na recuperação de amostras, observadas em grande percentual dos procedimentos realizados (77,8%). Possivelmente estes números poderiam ter sido minimizados com o uso de guias para passagem de agulhas conforme descrito por Finn-Bordner e Hathcock (1993), ou mediante o maior treinamento do operador.

4.2.5. Achados macroscópicos

Na maior parte dos animais os achados macroscópicos atribuíveis às técnicas

percutâneas se limitaram às áreas de hemorragia sobre a superfície da cápsula renal (Figura 21A) e a trajetos fibrosos lineares transversais do parênquima, causadas pela penetração das agulhas Tru-cut semi-automáticas, associadas às eventuais áreas de infarto cortical (Figuras 22C e D).

Dois animais, entretanto, demonstraram lesões mais amplas da superfície cortical. O animal um apresentou grande área de adelgaçamento do córtex sobre o pólo renal (Figura 21B), sem envolvimento da porção medular correspondente. Já o animal dois, além de apresentar diminuição do volume renal, achatamento e depressão irregular da extremidade do pólo caudal, com retração e substituição do córtex renal por tecido amarelado de consistência firme, ainda manifestou retração e fibrose do tecido medular adjacente (Figuras 21C e D). Histologicamente observou-se necrose coagulativa focalmente extensa e subaguda, característica de infarto renal.

A ocorrência de fibroses lineares conforme descrita em vários artigos (Osborne et al., 1968; Nash et al., 1983; Brow e Baird, 1988) são resultantes do dano direto da passagem das agulhas percutâneas através do tecido renal. Todavia, os infartos em forma de cunha observados neste estudo, assim como as lesões mais extensas observadas nos animais um e dois, foram determinados por danos diretos aos vasos sanguíneos renais. Esta afirmativa se baseia no consenso existente de que a severidade e extensão do dano renal são proporcionais ao número e ao tamanho dos vasos lesados (Osborne et al., 1996). Em função disto, preconiza-se confinar o trajeto da biópsia, o máximo possível, à região cortical (Nash et al., 1983), com o intuito de se evitar injúrias em áreas mais vascularizadas, como a junção corticomedular.

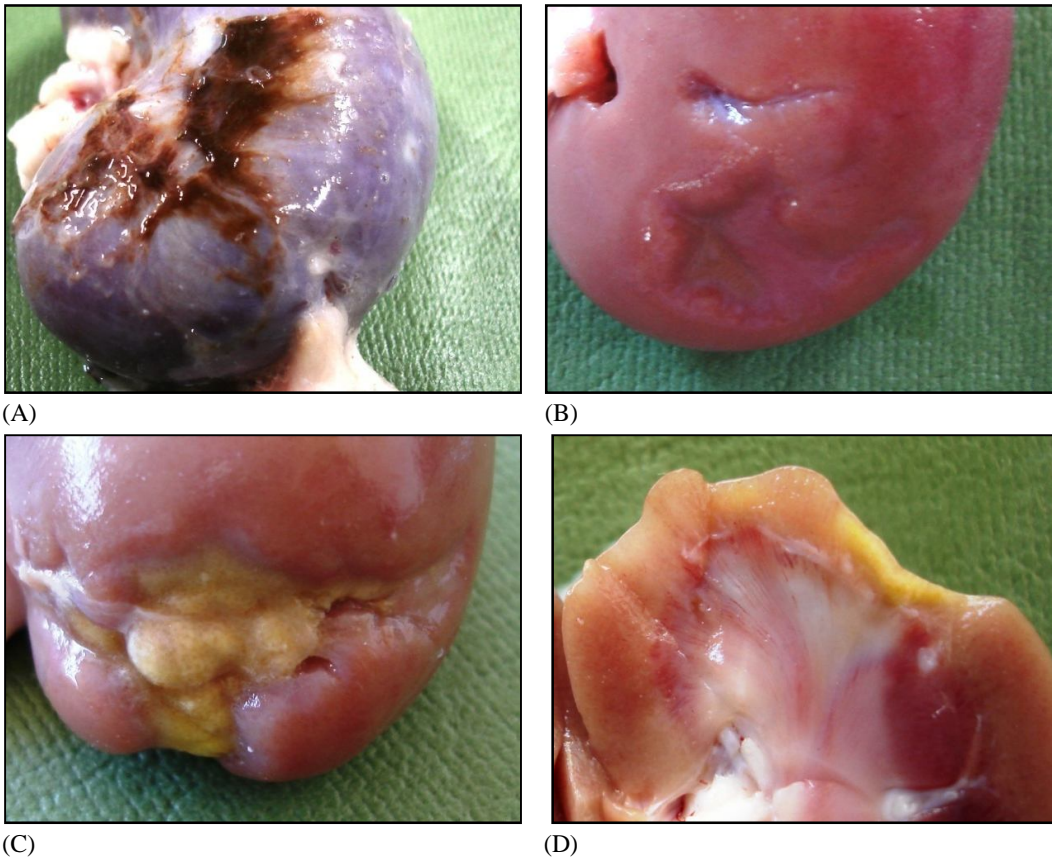


Figura 21. Aspecto macroscópico das lesões produzidas pelas biópsias renais. A. Hemorragia sobre a superfície da cápsula renal. Tecido adiposo aderido à depressão localizada da superfície renal (animal 5). B. Área de depressão da superfície cortical irregular sobre grande porção do pólo renal (animal 1). C. Depressão irregular da extremidade do pólo renal com retração e substituição do córtex renal por tecido necrótico amarelado de consistência firme-elástica (animal 2). D. Mesmo rim ao corte: áreas do córtex renal mais delgadas ou ausentes. Medular adjacente apresenta-se retraída e substituída por tecido conjuntivo.

De qualquer forma, no caso específico do animal dois, as lesões observadas foram relacionadas com o uso da técnicas TK, uma vez que as lesões renais já haviam sido identificadas através do exame ultrassonográfico um dia depois da biópsia.

Neste caso, além do grande número de repetições, da presença de epitélio de transição, de tecido medular e de uma arteríola arciforme na amostra, houve indícios de que o rompimento de aderências no momento da manipulação do rim direito

pôde ter contribuído para a ocorrência ou gravidade da lesão.

Por outro lado, as lesões observadas pelo uso da técnica PL apresentavam-se como depressões localizadas, limitadas ao córtex renal e associadas invariavelmente com aderência da cápsula renal e do tecido adiposo peri-renal (Figuras 22A e B). De maneira similar, a formação de aderências da superfície cortical à cápsula renal foi observada em estudo correspondente realizado em bovinos (Chiesa et al., 2006).

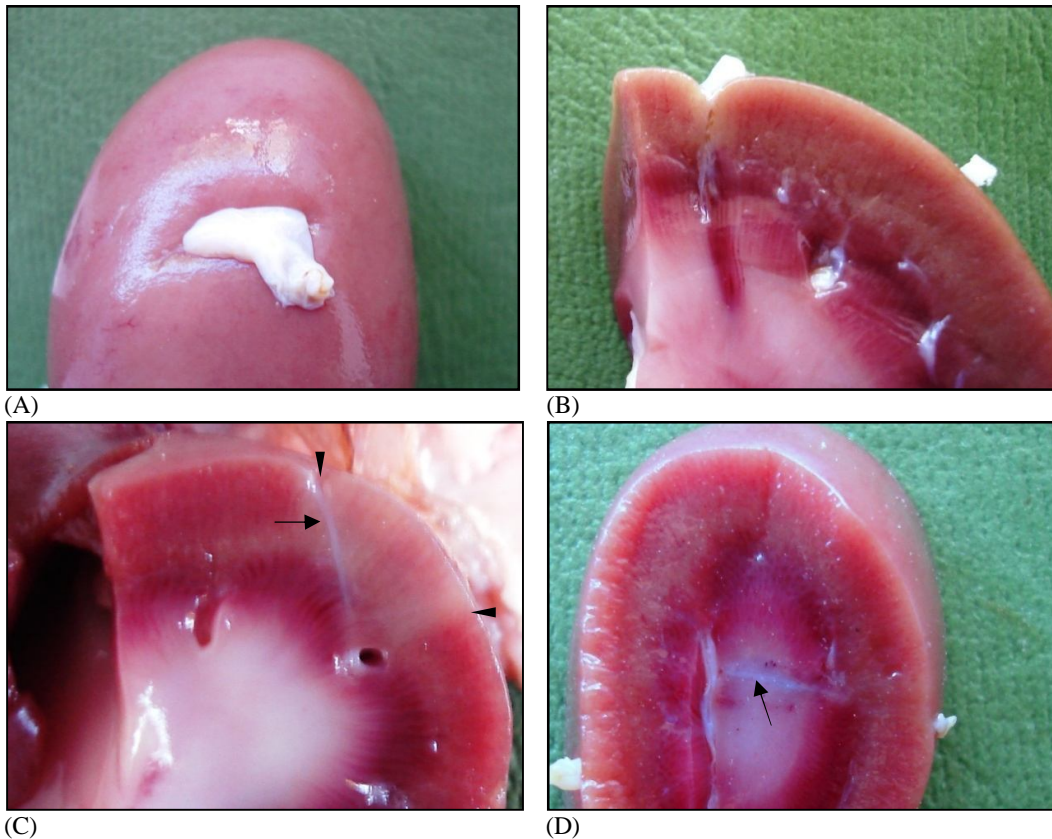


Figura 22. Aspecto macroscópico das lesões determinadas pelas biópsias renais (continuação). A. Depressão cortical localizada com aderência da cápsula renal determinada pela técnica PL (animal 4). B. Corte longitudinal sobre a lesão: bordos do córtex renal separados por um sulco profundo que se estende até a região medular. C. Corte do rim sobre depressão localizada da superfície renal evidencia trajeto fibroso (seta) da biópsia com agulha; no córtex adjacente verifica-se uma área típica de infarto renal (cabeças de seta). D. Corte transversal do pólo caudal do rim direito (animal 8): presença de trajeto fibroso (seta) de biópsia com agulha através de toda a extensão da medular renal.

4.2.6. Avaliação das amostras

a. Peso e número de tentativas

Os pesos médios das amostras renais obtidas através das técnicas percutâneas TK e TU não diferiram estatisticamente (Tabela 4), apesar da média da técnica TK ter apresentado maior valor numérico. Já os resultados associados à técnica de biópsia por videolaparoscopia (PL) diferiram estatisticamente das demais e a média relacionada com a PL foi bastante superior a das técnicas percutâneas (Gráfico 15). Ao dividir o peso das amostras pelo número de

tentativas empregadas foi mantida a mesma relação estatística entre as técnicas de biópsia.

A equivalência entre o peso médio das amostras obtidas com as duas técnicas percutâneas já era esperada, à medida que em ambas utilizou-se o mesmo tipo de agulha. Entretanto, apesar da equivalência estatística, notam-se médias superiores tanto para o peso total das amostras como para o peso obtido por tentativa.

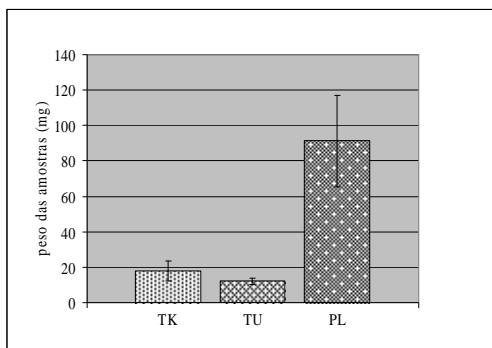


Gráfico 14. Peso médio das amostras renais (mg) e desvio padrão obtidos por tentativa para cada técnica de biópsia empregada.

Este fato pode ter refletido a dificuldade encontrada em se identificar através da ultrasonografia a profundidade em que agulha se encontrava no momento da biópsia. Além disso, nas ocasiões em que se recuperaram amostras com sucesso com apenas uma tentativa, o intervalo de variação dos pesos das amostras foi maior com o uso da técnica TK do que com o da TU (Quadro 20). Não existem dados exatos na literatura consultada sobre o peso das amostras recuperadas, mas em um estudo de biópsias renais percutâneas em ovinos com o uso de agulhas de Franklin-Silverman, os autores afirmaram ser necessário duas a três biópsias para se obter o peso aproximado de 40mg (Brow e Baird, 1988). Portanto, considerando o número de tentativas e a média obtida com as técnicas (Tabela 4), o valor de 40mg só poderia ser atingido nas mesmas condições com o uso da técnica TK.

Tabela 4. Comparação do número médio de tentativas despendidas para obtenção de amostras representativas e do peso médio das amostras (mg) obtidas com as técnicas de biópsia renal.

	TK	TU	PL
Nº de tentativas	1,67 ^{ab}	1,89 ^a	1,11 ^b
Peso total	17,83 ^a	12,06 ^a	91,3 ^b
Peso/ tentativas	13,01 ^a	7,27 ^a	85,61 ^b

^aMédias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Quadro 20. Intervalo de variação do peso das amostras (mg) renais obtidas com apenas uma tentativa.

	TK	TU	PL
Varição do peso	10,8 a 21,7	11,7 a 14,6	48 a 116,8
Biópsias com uma tentativa	5	2	8

Por outro lado, os pesos das amostras obtidos com a técnica PL foram bastante próximos aos observados em estudo similar realizado em bovinos (Chiesa et al., 2006).

Comparativamente também não houve diferenças estatísticas entre o número médio de tentativas despendidas para obtenção de amostras entre as técnicas de biópsia renal percutâneas, TK e TU, e entre com as técnicas PL e TK. Entretanto, a média associada à técnica TU foi estatisticamente superior à da técnica PL (Tabela 4 e Gráfico 14). Apesar da ausência de diferenças estatísticas entre as técnicas percutâneas neste quesito, a obtenção de amostra adequada com apenas uma tentativa só foi conseguida em duas ocasiões com o uso da técnica TU.

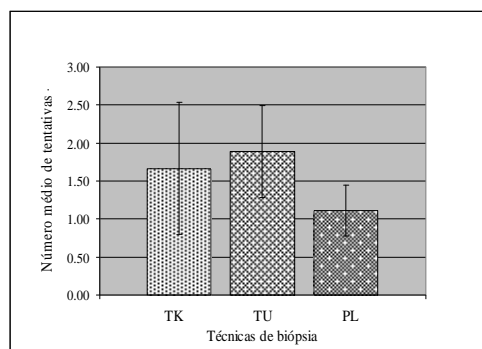


Gráfico 15. Número médio de tentativas e desvio padrão despendidos por técnica de biópsia renal para obtenção de amostras representativas.

Enquanto com o emprego da técnica TK o uso de apenas uma tentativa foi relacionado com 5 dos 9 procedimentos realizados. Estes números de tentativas, aliados aos menores pesos das amostras recuperadas com a técnica TU, provavelmente refletem as dificuldades inerentes à técnica de biópsia renal guiada por ultra-sonografia e/ou a necessidade de maior treinamento do operador. De qualquer forma, mesmo que a técnica TK seja mais trabalhosa, os resultados obtidos indicam que a técnica pode ser uma alternativa viável para a realização de biópsias renais em ovinos na ausência de equipamentos como a ultra-sonografia e de videolaparoscopia.

b. Glomérulos

A contagem de glomérulos das amostras recuperadas apresentou a mesma tendência estatística observada para o peso das amostras. Foram observadas diferenças significativas apenas entre a técnica PL e as biópsias percutâneas, tanto na contagem geral de glomérulos, quanto no cálculo dos números obtidos por tentativas despendidas (Tabela 5). Entre as biópsias percutâneas, apesar da média maior relacionada com a técnica TK, não ocorreram diferenças estatísticas em função da grande variação detectada entre os resultados de ambas as técnicas. Tais números de glomérulos foram influenciados em todos os tratamentos pelo peso e pela quantidade de tecido medular presente na amostra (Quadro 22). Resultados similares entre biópsias percutâneas também foram observados em estudo comparativo em caninos, ao confrontar a representatividade das amostras (presença de tecido medular e ≥ 5 glomérulos) obtidas com as técnicas de biópsia percutânea por laparoscopia e com duas variações da técnica “keyhole” (Wise et al., 1989).

O número de glomérulos recuperados com o uso da técnica PL superou a marca de 100 unidades em 66,7% dos casos. Em duas circunstâncias observaram-se números bastante inferiores, influenciados diretamente pela quantidade de tecido

medular presente na amostra. Entre as biópsias percutâneas, a TK apresentou melhores resultados. A média total e a média por tentativa obtidas foram de 36,8 e 30,4, respectivamente. Porém houve grande variação em torno destes números e o intervalo de variação entre as amostras com apenas uma tentativa foi de 16 a 72 glomérulos. Já as médias correspondentes da técnica TU foram 26,2 e 15,9, respectivamente, e os números observados com apenas uma tentativa foram de 12 e 44 glomérulos (Quadro 21).

Tabela 5. Comparação do número médio de glomérulos obtidos com as técnicas de biópsia renal.

	TK	TU	PL
Glomérulos totais	36.78 ^a	26.22 ^a	>100 ^b
Glomérulos/ tentativas	30,37 ^a	15,91 ^a	>100 ^b

^aMédias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Quadro 21. Intervalo de variação do número de glomérulos presentes nas amostras renais obtidas com apenas uma tentativa.

	TK	TU	PL
Varição nº de glomérulos	16 a 72	12 a 44	9 a >100

De qualquer forma, mesmo considerando os números médios de glomérulos recuperados por tentativa, verificou-se que todas as técnicas propiciaram a obtenção de uma quantidade de glomérulos superior àquela estimada como necessária para avaliações histopatológicas (Hoppe et al., 1986; Wise et al., 1989; Laufer-Amorim et al., 2002). Entre estas estimativas descritas em estudos de medicina humana, considera-se que a representatividade das amostras renais depende de pelo menos quatro glomérulos

em um estudo e de sete glomérulos em outro, e que o aumento destes números não resultariam em aumento da eficácia diagnóstica da amostra (Laufer-Amorim et al., 2002). Apesar de não haver estudos veterinários similares, alguns autores consideram igualmente adequadas amostras que apresentem tecido medular e um número mínimo de cinco glomérulos (Hoppe et al., 1986; Wise et al., 1989).

Todavia, não há consenso sobre este critério de representatividade. Para Osborne (1971), este critério arbitrário adotado é cercado de incoerências. De acordo com o autor, as informações contidas nas amostras de tecido não dependem diretamente do número de glomérulos. Exemplifica que em determinadas situações o diagnóstico não pode ser estabelecido mesmo com um número ilimitado de glomérulos, ao passo que em outras circunstâncias pode-se sugerir ou confirmar diagnósticos com apenas um glomérulo. Em estudo retrospectivo demonstrou que diagnósticos corretos podem ser realizados a partir de amostras com número reduzido de glomérulos (zero a quatro). Por fim ponderou que, apesar de não haver correlação direta entre o aumento do número de glomérulos e o aumento da eficiência da técnica no diagnóstico de enfermidades, as amostras com grande número de glomérulos podem ser úteis na avaliação da severidade de algumas doenças.

O número de glomérulos obtidos através de biópsias renais percutâneas tem sido relatado em diversos estudos de cães e gatos com o uso de técnicas e instrumentais distintos (Jeraj et al., 1982; Nash et al., 1983; Hoppe et al., 1986; Wise et al., 1989; Laufer-Amorim et al., 2002). As médias encontradas entre os estudos incluem 6,4 (Nash, 1986), 9,7 (Nash et al., 1986), 13,8 (Nash et al., 1983), 15,93 e 17,53 glomérulos (Laufer-Amorim et al., 2002).

d. Qualidade das amostras, artefatos e presença de tecido medular

Não houve diferenças estatísticas entre a qualidade das amostras recuperadas através das técnicas de biópsia estudadas. Apesar disso, verificaram-se avaliações levemente melhores para as amostras obtidas com a técnica PL do que através das técnicas percutâneas. De qualquer forma, independente do tipo de técnica empregada, as amostras foram consideradas regulares ou boas na maior parte das avaliações (Tabela 6 e Quadro 22).

Da mesma forma, não foram identificadas diferenças significativas entre as técnicas no que se referem ao grau de fragmentação parcial das amostras e à presença de hemorragia e tecido medular no tecido recuperado. Entretanto, foi visível entre os resultados um menor grau de fragmentação da amostra relacionado com a técnica TU e maior grau de hemorragia das amostras obtidas através da técnica PL.

Através dos resultados obtidos verificou-se que de forma similar ao observado no experimento de biópsia hepática, o emprego de agulhas Tru-cut propiciou a recuperação de amostras com qualidade similar a obtida com técnicas laparoscópicas, em que se tem um controle maior do procedimento de biópsia. Já a ocorrência levemente maior de hemorragia nas amostras recuperadas com a técnica PL provavelmente esteve relacionada com o mecanismo de pressão exercido pela pinça laparoscópica no momento da secção do fragmento.

Tabela 6. Comparação dos parâmetros qualitativos das amostras de acordo com a técnica de biópsia renal.

Técnicas	Qualidade	Fragmentação parcial	Presença de tecido medular	Hemorragia	Nº de arteríolas arciformes
TK	a	a	a	a	a
TU	a	a	a	a	a
PL	a	a	a	a	a

^aLetras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05).

Quadro 22. Avaliações histológicas quantitativas e qualitativas das amostras renais.

	Técnica/ Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Qualidade da amostra	TK	++ (+)	+ (+) ¹	++	+++	+++	++	+++	+	++
	TU	++ (+)	+ (+)	++	++ (+)	++	++ (+)	+++	+ (+)	++
	PL	+ (+)	++ (+)	++ (+)	++	++	+++	++ (+)	+++	++ (+)
Presença de tecido medular	TK	+++ ²	+ (P)	+	-	-	-	++	+ (P) ³	-
	TU	-	+ (+)	-	++ (+)	-	-	+++	++ (P)	-
	PL	+	-	++ (+)	-	-	+	++	-	+
Fragmentação parcial	TK	+ ⁴	++ (+)	++	-	-	-	-	+++	-
	TU	-	+	(+)	-	-	-	-	+	+
	PL	(+)	+ (+)	+	+ (+)	(+)	(+)	+	-	(+)
Hemorragia	TK	- ⁵	-	-	-	-	-	+	-	-
	TU	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	PL	-	++	+	-	-	-	-	-	(+)
Nº de arteríolas arciformes	TK	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	TU	3	-	-	-	-	-	3	-	-
	PL	- ⁶	-	1	-	-	3	2	-	2

1. +++ muito boa; ++ regular; + ruim, (+) qualidade intermediária.

2. +++ grande quantidade de tecido medular na amostra; ++ quantidade moderada; + pequena quantidade, (+) quantidade intermediária; - tecido medular ausente.

3. (P) = presença de epitélio de transição na amostra

4. +++ Grande fragmentação; ++ moderada; + pouco; (+) grau intermediário; - ausente.

5. ++ hemorragia moderada; + leve; (+) grau intermediário; - ausente.

6. - ausência de arteríolas arciformes.

5. CONCLUSÕES

5.1. BIÓPSIA HEPÁTICA

A realização de biópsias hepáticas seriadas pode produzir alterações clínicas discretas e transitórias em ovinos, sobretudo com o uso de agulhas de Menghini modificadas.

A realização de biópsias hepáticas seriadas não produz alterações hematológicas ou bioquímicas relevantes em ovinos.

O uso da ultra-sonografia e da videolaparoscopia nas biópsias percutâneas não resulta em acréscimo significativo do peso e da qualidade histológica das amostras.

As técnicas videolaparoscópicas com pinça laparoscópica (PL) e por ressecção (RL) propiciam a recuperação de amostras mais pesadas e representativas do que qualquer técnica percutânea utilizada.

A técnica de ressecção por videolaparoscopia (RL) não é indicada para a realização de biópsias hepáticas seriadas porque é associada com a formação de aderências.

Com exceção da RL, as demais técnicas de biópsia estudadas podem ser utilizadas em procedimentos seriados sem a ocorrência de complicações relevantes em ovinos.

A recuperação das amostras é mais difícil com o uso das agulhas de Menghini modificadas do que através das agulhas Tru-cut semi-automáticas.

As amostras obtidas com agulhas Tru-cut semi-automáticas tem peso mais uniforme e melhor qualidade histológica do que aquelas recuperadas com agulhas de Menghini modificadas.

As técnicas videolaparoscópicas permitem acesso mais amplo ao fígado do que qualquer outra técnica utilizada.

5.2. BIÓPSIA RENAL

As biópsias renais seriadas podem ser conduzidas em ovinos com o mínimo de complicações pós-cirúrgicas.

A realização de biópsias renais seriadas não produz alterações hematológicas ou bioquímicas relevantes em ovinos.

O uso da técnica “keyhole” (TK) determina maior ocorrência e gravidade da hematúria e danos mais graves ao tecido renal do que as demais técnicas utilizadas.

A técnica videolaparoscópica com pinça (PL) é um procedimento seguro e produz apenas hematúrias discretas e transitórias.

O uso da técnica videolaparoscópica com pinça (PL) permite a obtenção de amostras com peso bastante superior àquelas recuperadas com as biópsias percutâneas estudadas.

Há relação direta entre a ocorrência de hematúrias graves e a presença de epitélio de transição nas amostras e o número de tentativas utilizado.

Embora exija maior treinamento, a técnica percutânea com ultra-sonografia (TU) é mais segura do que a técnica percutânea “keyhole” (TK).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTMAN, N. H.; GROSSMAN, I. W.; JERNIGAN, N.B. Caprine cloisonné renal lesion clini-copathological observations. *Cornell Veterinary*, v. 60, p. 83-90, 1970.
- AMORIM, R. M.; BORGES, A. S.; KUCHEMUCK, M. R. G. et al. Bioquímica sérica e hemograma de bovinos antes e após a técnica de biópsia hepática. *Ciência Rural*, v. 33, n. 3, p. 519-523, 2003.
- ANDERSON, T. A.; TAYLOR, R. E.; DIVEN, R. H. et al. Reability of the liver biopsy technique for estimating hepatic vitamin A. *Journal of animal Science*, v. 21, p.369-372, 1962.
- ANGUS, K. W.; GARDINER, A. C.; MORGAN, K. T. et al. Mesangiocapillary glomerulone-phritis in lambs. I. clinical and biochemical findings in a finnish landrace flock. *Journal of Comparative Pathology*, v. 84, p. 309-317, 1974.
- ARAYA, O.; HERNANDEZ, J. R.; ESPINOZA, A. E. et al. Serum changes and histologic liver lesions due to experimental ingestion of ragwort (*Senecio erraticus*) in sheep. *Veterinary & Human Toxicology*, v. 25, n. 1, p. 4-7, 1983.
- AYRES, M.; AYRES, M. J.; AYRES, D. L. et al. *Bioestat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas*. Belém: Mamirama, Dez. 2005. Disponível <www.mamirama.org.br> Acesso em 30 jan. 2007.
- BAIN, P.J. Liver. In: LATIMER, K.S.; MAHAFFEY, E.A.; PRASSE, K.W. *Duncan & Prasse's Veterinary laboratory medicine*. 4. ed. Ames: Iowa State Press, 2003. Cap. 7, p. 193-230.
- BANG, K. S.; FAMILTON, A. S.; SYKES, A. R. Effect of ostertagiasis on copper status in sheep: a study involving use of copper oxide wire particles. *Research in Veterinary Science*, v. 49, n. 3, p. 306-141, 1990.
- BARR, F. Percutaneous biopsy of abdominal organs under ultrasound guidance. *Journal of Small Animal Practice*, v. 36, p. 105-113, 1995.
- BIGGE, L. A.; BROWN, D. J.; PENNING, D. G. Correlation between coagulation profile findings and bleeding complications after ultrasound-guided biopsies: 434 cases (1993-1996) *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 37, p. 228-233, 2001.
- BONE, J. F. A technic for aspiration liver biopsy in dairy cattle. *The North American Veterinarian*, v. 35, p. 747, 1954.
- BRAGA, M. M.; CASTILHOS, L. M. L.; SANTOS, M. N. Biópsia hepática em bovinos: proposta de nova técnica. *Revista Centro de Ciências Rurais*, v. 15, n. 1, p. 79-88, 1985.
- BRASELTON, W. E.; STUART, K. J.; MULLANEY, T. P. et al. Biopsy mineral analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy with ultrasonic nebulization. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 9, p. 395-400, 1997.
- BRAUN, J. P.; BENARD, P.; BURGAT, V. et al. Gamma glutamyl transferase in domestic animals. *Veterinary Research Communications*, v. 6, p. 77-90, 1983.
- BRAUN, U. Ultrasonographic examination of the liver and gall bladder in cows: abnormal findings. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.18, n. 2, p.s61-s73, 1996.
- BRAUN, U. Ultrasonographic examination of the liver in cows. *American Journal Veterinary Research*, v. 51, n. 10, p. 1522-1526, 1990.

- BRAUN, U.; GEBER, D. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis in cows. *American Journal of Veterinary Research*, v.53, p.1079-1084, 1992.
- BRAUN, U.; KOLLER-WILD, K.; BETTSCHART-WOLFENBERGER, R. Ultrasound-guided percutaneous portocentesis in 21 cows. *The Veterinary Record*, v. 147, n. 22, p. 623-626, 2000.
- BRAUN, U.; LINGGI, T.; POSPISCHIL, A. Ultrasonographic findings in three cows with chronic ragwort (*Senecio alpinus*) poisoning. *The Veterinary Record*, v. 144, n. 5, p. 122-126, 1999.
- BRAUN, U.; NUSS, K.; SODATI, G. et al. Clinical and ultrasonographic findings in four cows with liver tumours. *The Veterinary Record*, v. 15, p. 482-484, 2005.
- BRAUN, U.; PUSTERLA, N.; WILD, K. Ultrasonographic examination of the liver and gallbladder in cows: abnormal findings. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v. 18, n. 11, p. 1255-1269, 1996.
- BROWN, S. A.; BAIRD, A. N. Evaluation of renal gentamicin depletion kinetic properties in sheep, using serial percutaneous biopsies. *American Journal of Veterinary Research*, v. 49, n.12, p. 2056-2059, 1988.
- BUCLEY, W. T.; EIGENDORF, G. K.; DORWARD, W. J. A liver biopsy instrument for large animals. *The Canadian Journal of Animal Science*, v. 66, p. 1137-1140, 1986.
- BUNCH, S. E.; POLAK, D. M.; HORNBUCKLE, W. E. A modified laparoscopic approach for liver biopsy in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 187, n.10, p. 1032-1035, 1985.
- CHAPMAN, H. L.; COX, D. H.; HAINES, C. E. et al. Evaluation of the liver biopsy technique for mineral nutrition studies with beef cattle. *Journal of Animal Science*, v. 22, p. 733-737, 1963.
- CHIESA, O. A.; CULLISON, R.; ANDERSON, D. E. et al. Development of a technique for serial bilateral renal biopsy in steers. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 70, p. 87-93, 2006.
- COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; PILATI, C. Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 20, n. 1, p. 31-38, 2000.
- COSTA, P. R. S.; LOPES, M. A. F.; COSTA, M. C. et al. Biopsia hepática videolaparoscópica em cães. *Revista Ceres*, v. 52, n. 303, p. 763-770, 2005.
- DICK, A. T. Aspiration biopsy of the liver in sheep. *Australian Veterinary Research*, v. 20, p. 298-303, 1944.
- DICK, A.T. Improved apparatus for aspiration biopsy of the liver in sheep. *Australian Veterinary Journal*, v 28, p. 234-235, 1952.
- DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: ROSENBERGER, G. *Exame Clínico dos Bovinos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap.7, p. 166-225.
- DONALD, G. E.; PAULL, D. R.; LANGLANDS, J. P. Liver biopsy as a technique for assessing copper status of sheep. *Australian Veterinary Journal*, v. 61, n. 4, p. 121-122, 1984.
- DROST, W. T.; HENRY, G. A.; MEINKOTH, J. H. et al. The effects of a unilateral ultrasound-guided renal biopsy on renal function in healthy sedated cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v. 41, n. 1, p. 57-62, 2000.

- DUARTE, A. L. L.; CATTELAN, J. W.; VICENTE, W. R. R. et al. Biópsia hepática em caprinos guiada por vídeo-laparoscopia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, supl. 2, p. 105, 2006.
- DUNCAN, I. F. Liver biopsy and black disease in a sheep. *Australian Veterinary Journal*, v. 61, n 8, p. 272-273, 1984.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. *Tratado de Anatomia Veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 663 p.
- ERWIN, E. S.; DYER, I. A.; MEYER, T. O. et al. Uses of aspiration biopsy technique. *Journal of Animal Science*, v. 15, p. 428-434, 1956.
- FERREIRA, A. V.; VAN DER MERWE, H. J.; SLIPPERS, S. C. A technique for obtaining liver biopsies from mature sheep. *Small Ruminant Research*, v 22, p. 89-92, 1996.
- FINN-BODNER, S. T.; HATHCOCK, J. T. Image-guided percutaneous needle biopsy: ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance imaging. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, v. 8, p. 258, 1993.
- GARNER, H. E.; THURMON, J. C.; ROMACK, F. E. Biopsy: surgical method for obtaining large samples of liver, kidney, and muscle from cattle. *American Journal of Veterinary Research*, v. 29, n. 12, p. 2407-2409, 1968.
- GARNER, R. J. Aspiration biopsy liver for the cattle. *The Veterinary Record*, v. 62, p. 729-730, 1950.
- GONZALO-ORDEN, M.; MILLÁN, L.; ÁLVAREZ, M. et al. Diagnostic imaging in sheep hepatic fascioliasis: ultrasound, computer tomography and magnetic resonance findings. *Parasitology Research*, v. 90, p. 359-364, 2003.
- GRAUER, G. F.; TWEDT, D. C.; MERO, K. N. Evaluation of laparoscopy for obtaining renal biopsy specimens from dogs and cats. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 183, p. 677-679, 1983.
- HABEL, R. E. Sistema digestivo. In: Getty, R. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. Cap. 29, p. 807-858.
- HAGER, D. A.; NYLAND, T. G.; FISHER, P. Ultrasound-guided biopsy of the canine liver, kidney, and prostate. *Radiology*, v. 26, n. 3, p. 82-88, 1985.
- HARVEY, R. B., LOVERING, S. L.; BAILEY, E. M. et al. The influence of multiple liver biopsies on hematologic and serum biochemical values of sheep. *Cornell Veterinary*, v. 74, p. 322-330, 1984.
- HIDIROGLOU, M.; IVAN, M. Liver biopsy in sheep. *Veterinary Research*, v. 24, p. 260-265, 1993.
- HOGAN, K. G.; MONEY, D. F. L.; WALKER, R. S. The distribution of copper in the liver of pigs and sheep and its effect on the value of chemical analyses made on biopsy samples. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v. 14, p. 132-141, 1971.
- HOPPE, F. E.; HAGER, D. A.; POULOS, P. W. et al. Comparison of manual and automatic ultrasound guided biopsy techniques. *Veterinary Radiology*, v. 27, p. 99-101, 1986.
- HUGHES, J. P. A simplified instrument for obtaining liver biopsies in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, v. 23, p. 1111-1112, 1962.

- ISHMAEL, J.; GOPINATH, C., HOWELL, J. M. Experimental chronic copper toxicity in sheep. Histological and histochemical changes during the development of the lesions in the liver. *Research in Veterinary Science*, v. 12, n. 4, p. 358-366, 1971.
- JERAJ, K.; OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B. Evaluation of renal biopsy in 197 dogs and cats. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 181, n. 4, p. 367-369, 1982.
- JONES, B. D.; GROSS, M. E. Introduction to endoscopy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 20, n. 5, p. 1199-1208, 1990.
- KERWIN, S. C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 25, n. 2, p. 275-303, 1995.
- KIRKPATRICK, J. G.; HELMAN, R. G.; BURROWS, G. E. et al. Evaluation of hepatic changes and weight gains in sheep grazing *Kochia scoparia*. *Veterinary & Human Toxicology*, v. 41, n. 2, p. 67-70, 1999.
- KNOLL, J.S. Clinical automated hematology systems In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap. 1, p. 3-11.
- LAUFER-AMORIM, R.; BANDARRA, E. P.; MONTEIRO, L. A. J. et al. Avaliação quantitativa e qualitativa da técnica de biopsia renal "de janela" em cães. *Ciência Animal Brasileira*, v. 3, n.2, p. 41-45, 2002.
- LECHETENBERG, G. B.; NAGARAJA, T. G.; AVERY, T. B. Ultrasound-guided, percutaneous catheterization of the portal vein in the cattle. *Agricultural Practice*, v. 10, p. 41-42, 1989.
- LEMOS, R. A. A.; FERREIRA, L. C. L.; SILVA, S. M. et al. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, v. 26, n. 1, p. 109-113, 1996.
- LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JUNIOR, G. O. et al. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. *Ciência Rural*, v. 28, n. 3, p. 507-510, 1998.
- LÉVEILLÉ, R.; PARTINGTOON, B. P.; BILLER, D. S. et al. Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 cases (1984-1991). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 203, n. 3, p. 413-415, 1993.
- LOFSTEDT, J.; SCHELLING, S.; STOWATER, J. et al. Antemortem diagnosis of hepatic adenocarcinoma in a ewe. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 193, n. 12, p. 1537-1538, 1988.
- LOOSMORE, R. M.; ALLCROFT, R. Technique and use of liver biopsy in cattle. *The Veterinary Record*, v. 63, n. 24, p. 414-416, 1951.
- MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. *Medicina de laboratório Veterinária: Interpretação e diagnóstico*. São Paulo: Editora Roca, 1995. 320p.
- MITCHELL, B.; WILLIAMS, J. T. Technique for biopsy of renal cortex in sheep. *The Veterinary Record*, v.96, n. 18, p. 405, 1975.
- MORRIS, C. A.; SMITH, B. L.; HICKEY, S. M. Relationship between sporisemin-induced liver injury and serum activity of gamma-glutamyltransferase in Romney lambs sired by facial eczema-resistant or

- control rams. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 50, n. 1, p. 14-18, 2002.
- NAGARAJAN, B.; SRINIVASAN, S. R.; DHANAPALAN, P. et al. A note on comparative study on liver biopsy sites in cattle. *Indian Veterinary Journal*, v. 69, p. 573-574, 1992.
- NAOI, M.; KOKUE, E-I.; TAKAHASHI, Y. et al. Laparoscopic-assisted serial biopsy of the bovine kidney. *American Journal of Veterinary Research*, v. 46, n. 3, p. 699-702, 1985.
- NASH, A. S.; BOYD, J. S.; MINTO, A. W. et al. Renal biopsy in the normal cat: an examination of the effects of a single needle biopsy. *Research in Veterinary Science*, v. 34, n. 3, p. 347-356, 1983.
- NASH, A. S.; BOYD, J. S.; MINTO, A. W. et al. Renal biopsy in the normal cat: examination of the effects of repeated needle biopsy. *Research in Veterinary Science*, v. 40, p. 112-117, 1986.
- NASH, A. S. Renal biopsy in the normal cat: development of a modified disposable biopsy needle. *Research in Veterinary Science*, v. 40, p. 246-251, 1986.
- OLANDER, H.J.; HUGHES, J.P.; BIBERSTEIN, E.L. Bacillary hemoglobinuria: induction by liver biopsy in naturally and experimentally infected animals. *Pathology Veterinary*, v. 3, n. 5, p. 421-50, 1966.
- OSBORNE, C. A. Clinical avaluation of needle biopsy of the kidney and its complications in the dog and cat. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 158, p. 1213-1229, 1971.
- OSBORNE, C. A.; BARTGES, J. W.; POLZIN, D. J. et al. Percutaneous needle biospy of the kidney. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 26, n. 6, 1461-1504, 1996.
- OSBORNE, C. A.; FARNING, M. L.; SCHULTZ, R. H. et al. Percutaneous renal biopsy in the cow and horse. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 153, p. 563-570, 1968.
- OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R.; LOW, D. G. et al. Percutaneous renal biopsy in the dog and cat. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 151, n. 11, p. 1474-1480, 1967.
- PEARSON, E. G.; GRAIG, A. M. The diagnosis of liver disease in equine and food animals. *Modern Veterinary Practice*, v. 63, n. 3, p. 233-238, 1980.
- PHILLIPPO, M. A technique for liver biopsy in sheep. *Journal of Agricultural Science*, v. 80, p. 313-314, 1973.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. et al. *Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G.; HOUSTON, D. M. *Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 591p.
- RAMKUMAR, V.; KWATRA, M. S.; KALRA, D. S. et al. Open renal biopsy in bovines: an experimental study. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 42, p. 915-918, 1972.
- RAPOSO, J. B.; MENDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. et al. Experimental intoxication by *Myoporum laetum* in sheep. *Veterinary & Human Toxicology*, v. 40, n. 3, p. 132-135, 1998.
- RYCKE, L. M. J. H.; BAN BREE, H. J. J.; SIMOENS, P. J. M. Ultrasound-guided

tissue-core biopsy of liver, spleen and kidney in normal dogs. *Ultrasound*, v. 40, n. 3, p. 294-299, 1999.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265 p.

SCHERER, P. O.; PILE, E. A.; SERRA-FREIRE, N. M. et al. Modificação da técnica de punção-biópsia hepática para pequenos ruminantes. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 1, p. 55-57, 2000.

SCHERER, P. O.; PILE, E. A.; SERRA-FREIRE, N. M. et al. Uso da técnica de punção-biópsia para o diagnóstico histopatológico da fasciolose ovina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 36, n.4, p. 1999.

SEAMAN, J.T.; TURVEY, W.S.; OTTAWAY, S.J. et al. Investigations into the toxicity of *Echium plantagineum* in sheep. 1. Field grazing experiments. *Australian Veterinary Journal*, v. 66, n. 9, p. 279-285, 1989.

SEGHETTI, L.; MARSH, H. Liver biopsy in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, v. 14, p. 9-11, 1953.

SILVA, L. C. L. C.; STOPIGLIA, A. J.; FANTONI, D. T. Técnica de biópsia hepática em eqüinos por laparoscopia. *Ciência Rural*, v. 32, n. 3, p. 459-465, 2002.

SIMPSON, J. W.; ELSE, R. W. Diagnostic value of tissue biopsy in gastrointestinal and liver disease. *The Veterinary Record*, v. 120, p. 230-233, 1987.

SISSON, S. Aparelho Urogenital do Ruminante. In: GETTY, R. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 5. ed. Rio de Janeiro:

Guanabara Koogan, 1986. Cap. 31, p. 879-895.

STÖBER, M. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica de exame clínico geral. In: ROSENBERGER, G. *Exame Clínico dos Bovinos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap.7, p. 166-225.

TAYLOR, J. A. Leukocyte responses in ruminants. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap. 57, p. 391-404.

THRALL, M. A. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo: Editora Rocca, 2007. 592p.

TOSTES, R. A.; BANDARRA, E. P. Biópsia hepática em cães: relação entre qualidade da amostra e grau de conclusão do diagnóstico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 54, n. 5, 2002.

TOUTAIN, P.L.; DE POMYERS, H.; LARRIEU, G. et al. An in vivo model for pharmacokinetic studies in the kidney. *Journal of Pharmacological Methods*, v.14, n. 1, 1-11, 1985.

TOWERS, N. R.; STRATTON, G. C. Serum gamma-glutamyltransferase as a measure of sporidesmin-induced liver damage in sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 26, p. 109-112, 1978.

TURNER, J. C.; GREEN, R. S. The use of a liver biopsy technique for investigating the effects of hexachlorobenzene on some drug-metabolising enzymes in sheep. *Research in Veterinary Science*, v. 20, p. 155-157, 1976.

UDALL, R. H.; WARNER, R. G.; SMITH, S. E. A liver biopsy technique for cattle. *Cornell Veterinary*, v. 42, p. 25-27, 1952.

- VAN RYSSSEN, J. B. The effectiveness of using supplementary zinc and molybdenum to reduce the copper content in the liver of hypercuprotic sheep. *Journal of the South African Veterinary Association*, v. 65, n. 2, p. 59-63, 1994.
- VASANJEE, S. C.; BUBENIK, L. J.; HOSGOOD, G. et al. Evaluation of hemorrhage, sample size, and collateral damage for five hepatic biopsy methods in dogs. *Veterinary Surgery*, v. 35, p. 86-93, 2006.
- WAWERU, J. G.; RANYARI, P. W. N.; MWANGI, D. M. et al. A comparison of serum biochemical changes in two breeds of sheep (Red Masai an Dorper) experimentally infected with *Fasciola Gigantia*. *Ondestepoort Journal of Veterinary Research*, v. 66, p. 47-49, 1999.
- WHITEHAIR, C. K.; PETERSON, D. R.; VAN ARSDELL, W. J. et al. A liver biopsy technique for cattle. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 121, p. 285-287, 1952.
- WISE, L. A.; ALLEN, T. A.; CARTWRIGHT, M. Comparison of renal biopsy techniques in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 195, n. 7, p. 935-939, 1989.
- WISLOFF, H.; FLAOYEN, N.; OTTESEN, N. et al. *Narhecium ossifragum* (L.) Huds. Causes kidney damage in goats: morphologic and functional effects. *Veterinary Pathology*, v. 40, p. 317-327, 2003.
- YAMAGA, Y., TOO, K. Diagnostic ultrasound imaging in domestic animals: fundamental studies on abdominal organs and fetuses. *Japanese Journal Veterinary Science*, v. 46, n. 2, p. 203-212, 1984.

7. ANEXO I

7.1. Quadros com resultados completos

Quadro 23. Número individual de tentativas empregadas por técnica de biópsia hepática para obtenção de amostras representativas

Animais/ técnica	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
39	2	2	5	1	1	1	1	1
100	1	1	1	1	1	1	1	1
101	2	1	2	1	1	1	2	2
102	1	1	3	1	3	1	1	1
103	1	1	1	1	1	1	1	1
109	1	1	2	1	2	1	1	1
132	1	1	1	1	3	2	1	1
146	3	1	4	1	1	1	1	2

Quadro 24. Peso total das amostras (mg) obtidas de cada animal através de técnicas de biópsia hepática

Animais/ técnica	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
39	50,5	44,6	74,2	24,7	46,2	25,9	96,1	599,7
100	45,3	32,5	57,4	30,8	45,0	22,4	104,1	1568,2
101	27,6	25,2	19,2	25,9	88,5	34,1	125,2	2160,3,
102	52,2	32,4	48,1	23,1	61,6	31,0	260,8	956,4,
103	57,6	34,0	22,9	26,4	67,5	28,9	104,5	1086,1
109	49,4	23,3	62,8	29,0	78,6	25,3	150,6	1667,5
132	74,0	34,6	70,5	24,6	68,4	48,7	109,8	1647,7
146	31,7	30,9	62,3	25,0	37,2	30,5	107,4	1213,6

Quadro 25. Número total de veias centrolobulares presentes nas amostras obtidas de cada animal com as técnicas de biópsia

Animais/ técnica	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
39	17	18	12	19	12	12	10	Incontáveis
100	12	15	13	9	16	11	10	Incontáveis
101	7	10	13	11	25	17	14	Incontáveis
102	19	16	11	6	15	9	15	Incontáveis
103	23	6	16	10	27	15	18	Incontáveis
109	15	15	26	12	17	18	49	Incontáveis
132	13	8	12	16	27	15	14	Incontáveis
146	8	18	11	10	17	12	15	Incontáveis

Quadro 26. Número total de espaços-porta presentes nas amostras obtidas de cada animal com as técnicas de biópsia

Animais/ técnica	MC	TC	MU	TU	ML	TL	PL	RL
39	26	29	39	27	32	23	23	incontáveis
100	29	21	33	20	19	17	26	incontáveis
101	18	34	27	27	40	24	67	incontáveis
102	35	25	19	17	34	26	28	incontáveis
103	25	21	28	13	53	33	42	incontáveis
109	38	23	43	28	33	21	78	incontáveis
132	31	19	22	16	44	41	39	incontáveis
146	18	8	29	26	19	28	38	incontáveis

Quadro 27. Número individual de tentativas empregadas por técnica de biópsia renal para obtenção de amostras representativas

Animais/ Técnica	TK	TU	PL
1	2	2	1
2	3	1	1
3	1	1	1
4	1	2	1
5	1	2	1
6	1	2	1
7	1	3	1
8	2	2	1
9	3	2	2

Quadro 28. Peso total das amostras (mg) obtidas de cada animal através das técnicas de biópsia renal

Animais/ Técnica	TK	TU	PL
1	24,2	10,8	62,5
2	23,4	11,7	48
3	18,6	14,6	108,1
4	17,1	10,4	103,1
5	21,7	10	116,8
6	10,8	14,9	111,9
7	15,8	12	62,7
8	21,4	10,8	106,1
9	7,5	13,3	102,5

Quadro 29. Número total de glomérulos presentes nas amostras obtidas de cada animal com as técnicas de biópsia

Animais/ Técnica	TK	TU	PL
1	41	29	90
2	27	12	> 100
3	29	44	9
4	72	49	> 100
5	65	35	> 100
6	16	22	> 100
7	47	17	14
8	21	5	> 100
9	13	23	> 100