

THALES ROCHA DE MATTOS FILHO

INFLUÊNCIA DA HEPATECTOMIA PARCIAL NO TEMPO DE SONO  
PELO METOHEXITAL, EM RATOS

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da  
UNICAMP, para obtenção do  
grau de Mestre em Farmacologia.

PIRACICABA - 1976

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus Pais, incontestáveis exemplos de dedicação e bons princípios, que se caracterizam por harmonia de pensamento e conduta no lar;

Aos meus irmãos, cunhados e sogros, pelo incentivo que sempre souberam me dar;

À MARA, minha esposa, pelo amor e compreensão que me dedica em todos os momentos;

... dedico esse trabalho.

À Professora Doutora WILMA PEREIRA BASTOS RAMOS, pelo magnífico apoio e orientação científica que sempre me proporcionou, desde os tempos de acadêmico, e pela segura orientação neste trabalho;

Ao Professor Doutor ANTONIO CARLOS NEDER, pelas oportunidades que me tem oferecido, ampliando sobremaneira os horizontes da minha vida universitária;

Ao Professor Doutor ARMANDO OCTÁVIO RAMOS, pelo exemplo que sempre foi, de humildade, humanidade e sabedoria e pelas sugestões apresentadas;

... as minhas homenagens.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor ZEFERINO VAZ, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pelo interesse e incentivo dispensado àqueles que se dedicam ao ensino e à pesquisa.

Ao Professor Doutor JOSÉ MERZEL, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pela oportunidade que nos ofereceu para a realização deste trabalho.

Aos docentes da Disciplina de Farmacologia, da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela valiosa orientação fornecida nos passos iniciais de nossa carreira.

Aos colegas das Disciplinas de Farmacologia e Anestesiologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Doutores SAMIR TUFIC ARBEX, MARIA DE LOURDES GARBOGGINI DA GAMA, AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO, JONAS VAZ DE ARRUDA e JOSÉ RANALI, pelo apoio que nos concederam.

À Doutora SÔNIA VIEIRA, pela colaboração na avaliação estatística deste trabalho.

Ao Professor GONTRAN PINHEIRO MACHADO NETO, pela revisão do vernáculo.

À Senhora IVONETE APARECIDA DORINI DE AGUIAR

E SILVA e a Senhorita SÔNIA MARIA APARECIDA SIMIONATO VICTÓ  
RIA, pelos serviços datilográficos.

Ao Senhor MÁRIO HERLING DE OLIVEIRA, pela ela  
boração dos gráficos.

À Senhora IVANY DO CARMO GUIDOLIN GEROLA, pe  
la revisão da listagem bibliográfica.

Aos Senhores ULYSSES DE OLIVEIRA MARTINS e AN  
TONIO CARLOS BENEDITO, pela colaboração na execução dos proce  
dimentos experimentais.

Ao Senhor SEBASTIÃO RODRIGUES DE BARROS, pe  
los serviços de impressão e encadernação deste trabalho.

## CONTEÚDO

INTRODUÇÃO .....	1
PROPOSIÇÃO .....	11
MATERIAL E MÉTODOS .....	12
SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA .....	18
RESULTADOS .....	21
DISCUSSÃO .....	45
CONCLUSÕES .....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50

## I - INTRODUÇÃO

O estudo da regeneração hepática constituiu-se em vasto campo para investigação laboratorial. A veracidade desse fato é comprovada quando se depara com a grande quantidade de trabalhos científicos que a abordam sob os mais variados aspectos morfológicos e funcionais.

Como modelo experimental, o fígado de rato, em regeneração após hepatectomia parcial, tem sido exaustivamente explorado e esse fato se deve, principalmente, ao grande avanço da tecnologia científica que aconteceu neste século, dando margem a sofisticados estudos da biologia celular, para o esclarecimento de fatos até então obscuros.

O fígado desempenha um papel de grande importância na biotransformação de drogas e as enzimas envolvidas nos processos metabólicos se encontram principalmente nos microsossomos hepáticos. Por conseguinte, a duração e intensidade de efeitos de inúmeros fármacos dependem essencialmente da atividade das enzimas microssômicas.

Por outro lado, numerosas drogas são capazes de ativar os microsossomos hepáticos. Dessa forma, aumentam a capacidade de sistemas enzimáticos localizados nessas estruturas em metabolizar diversos fármacos, inclusive aqueles que induzem tal ativação. Sobre o assunto, FOUTS e col. (1966) e CONNEY (1967) apresentaram extensos trabalhos de revisão. Entre as drogas possuidoras dessa propriedade, diversas são depressoras do sistema nervoso central, como sejam certos hipnóticos e sedativos (*barbitúricos, glutetimida, uretana, carbromal*), anestésicos gerais (*protóxido de nitrogênio, metoxifluorane*), anticonvulsivantes (*difenildantoína, parametadiona, trimetadiona*) e tranquilizantes (*meprobamato, clordizepóxido, clorproma*

zina).

É fato conhecido que diversas dessas substâncias causam aumento do volume do fígado, se forem administradas repetidamente. Tal tem sido observado com o fenobarbital (CONNEY e col., 1960-1963; REMMER & MERKER, 1963), e com o 3-metilcolantreno (CONNEY e col., 1956; ARCOS e col., 1961; CONNEY & GILMAN, 1963), entre outras drogas. Esses fatos despertaram o interesse em se estudar a influência de várias drogas sobre a regeneração hepática, em animais submetidos à hepatectomia parcial. Contudo, pode-se observar pela revisão da literatura, que o número de drogas estudadas sob esse aspecto é relativamente pequeno e geralmente envolve fármacos capazes de inibir o processo regenerativo, muitos dos quais com atividade antimicrobiana bem estabelecida. Assim, foi constatada a influência inibitória da cortisona (STANLEY e col., 1954), da ametopterina (BARTON & LAIRD, 1957), do fluoruracil (PASCHKIS e col., 1959), do fluoracetato (WEINBREN & FITSCHEN, 1959), da colchicina (KELLY, 1960), do metotrexato (COWARD e col., 1968), da hidrocortisona (RAAB & WEBB, 1969).

Tem sido demonstrado que algumas drogas são capazes de incrementar a regeneração hepática, como sejam a difenildantoina (SMITH & ROBINSON, 1962), a fenilbutazona e a niquetamida (GERSHBEIN, 1958), o fenobarbital (FREY e col., 1968) e a primidona (BASTOS & RAMOS, 1971). Embora os trabalhos nesse sentido sejam muito escassos, os resultados obtidos pelos diversos autores indicam o interesse em se pesquisarem outras drogas com tal propriedade.

Deve-se ponderar que a regeneração hepática constitui-se em um modelo experimental muito interessante para o estudo de crescimento de tecidos, com possibilidade de, numa visão otimista, esclarecer fatos biológicos básicos da mais relevante importância. Nesse sentido, é inegável o interesse do es

tudo de drogas capazes de modificá-lo.

Os fatores que influenciam a regeneração hepática são os mais variados e a reprodutibilidade dos resultados exige condições experimentais rigorosamente controladas. Os fatores mais importantes são : a espécie animal e a linhagem utilizada (ver HARKNESS, 1952); idade - ratos jovens em fase de crescimento rápido, regeneram a massa hepática e a população de células mais rapidamente que ratos adultos; volume de fígado retirado - a retirada de menos de 2/3 do volume resulta em crescimento mais atenuado dos lóbulos residuais, enquanto que a retirada de mais de 2/3 acarreta uma tendência de aumento compensatório, mais pelo acúmulo de diversas substâncias do que de células (HARKNESS, 1957). Outros fatores que influenciam são condições de alojamento e dieta dos animais.

Os estudos envolvendo regeneração hepática podem ser realizados em diversas espécies e raças de animais da escala zoológica. No presente trabalho, foi utilizado o *Rattus norvegicus albinus*, da raça Wistar, pela facilidade com que são criados em cativeiro e pelo fato de que na maioria dos trabalhos realizados nesse campo foram utilizados esses animais.

Valiosa contribuição foi fornecida pelo trabalho de HIGGINS & ANDERSON (1931), no qual esses autores desenvolveram excelente técnica de hepatectomia parcial, cuja execução é bastante segura e segundo a qual se extirpa dois terços da massa hepática total, compreendendo os lóbulos central e lateral esquerdo e que foi utilizado no presente trabalho.

Durante o processo regenerativo, uma série de eventos têm sido constatada. Com relação às células parenquimatosas, ocorre, nas primeiras 12 horas da operação, aumento do volume das células, núcleos e nucléolos dos lóbulos residuais e após 24 horas iniciam-se processos mitóticos (HARKNESS, 1957;

GLINOS, 1958; WEINBREN, 1959). O retículo endoplasmático começa a se refazer pelas 16-18 horas, iniciando-se pelas células centrolobulares (BERNHARD & ROUILLER, 1956), estando a estrutura normalizada entre 26 e 48 horas (BERNHARD & ROUILLER, 1956; BERNHARD, 1958; OBERLING, 1959).

A atividade mitótica, avaliada por incorporação de precursores marcados do DNA, em estudos com radioautografia é pequena (0,2 - 0,4%) nas primeiras 16-18 horas da operação (EDWARDS e col., 1959; SCHULTZE & OEHLERT, 1961), seguindo um aumento rápido que atinge o pico máximo pelas 20-24 horas, seguindo-se declínio (GRISHAM, 1960). Estudos com determinação de índice mitótico mostram que as mitoses se evidenciam aproximadamente pelas 24 horas, sobem rapidamente até cerca de 28 horas, e decrescem, primeiro rapidamente, e após, lentamente, pelos dias seguintes (CARTER e col., 1956-1957; HARKNESS, 1957; WEINBREN, 1959). Nas determinações do pico de mitoses é importante que seja considerada a ritmicidade diurna das mesmas, que varia possivelmente de 3 a 4 vezes entre um máximo e um mínimo (BUCHER, 1963).

O crescimento do fígado é rápido até o terceiro dia, decresce a seguir, e de acordo com BUCHER (1963), o processo de regeneração está praticamente completo aos 10-15 dias. Alguns autores encontraram que o órgão readquire rapidamente a massa original (HARKNESS, 1957; WEINBREN, 1959), enquanto que outros achados são discrepantes (LEONG e col., 1959).

Quanto às células não parenquimatosas, iniciam a síntese de DNA e os processos mitóticos cerca de 24 horas após os hepatócitos e o tecido conectivo se reconstitui muito mais lentamente que outros elementos hepáticos (BUCHER, 1963).

Trabalho realizado por GARRIDO (1968), analisa outro aspecto de muita importância, no qual ressalta que muitas

vezes a regeneração hepática pode ser prejudicada por proliferação desordenada de células mesenquimais ou sinunsoidais, provocando hipertensão portal, fato esse que acontece em diversos tipos de hepatite. A multiplicação dos hepatócitos facilita a distorção da arquitetura hepática, fazendo-se em cordões de 2 ou 3 células apertadas, em lugar de cordões unicelulares do fígado normal adulto. Mostra, com isso, que muitas vezes, hepatomegalia, esplenomegalia, hemorragias digestivas, ascite e até a conseqüente necrose hepatecelular, dependem mais de uma regeneração hepática anormal do que da simples persistência do agente etiológico primário de ação necrosante.

BENGMARK e col. (1968), insatisfeitos com as informações a respeito das mudanças morfológicas e metabólicas que ocorrem após hepatectomia parcial, estudaram-nas decorridas 18 meses de cirurgia e verificaram que não há diferença biologicamente significativa, como acontece quando as análises são feitas em tempos mais curtos de regeneração, segundo mostram alguns autores em trabalhos anteriores. As análises feitas foram : peso corporal, do fígado e do baço; concentração e atividade da transaminase oxalacética glutâmica e da transaminase pirúvica glutâmica; e concentrações de albumina, alfa, beta e gamaglobulina no soro.

Diversos parâmetros bioquímicos do fígado têm sido avaliados durante o processo de regeneração. Dentro das primeiras horas após a hepatectomia parcial, o glicogênio é depletado, acumulando-se lipídeos (HARKNESS, 1957), derivados mais provavelmente da mobilização de depósitos do que de síntese local.

Com relação a aminoácidos e proteínas, foi observado por FERRARI & HARKNESS (1954) que ocorre aumento até cerca de 36 horas, ocorrendo concomitantemente, abundância de aminoácidos livres; até 12 horas após a hepatectomia não é constata

do com facilidade aumento proteico.

As variações que ocorrem com diversos sistemas enzimáticos são extensas e variadas. Sobre o assunto, ver BUCHER 1963.

Diversos métodos têm sido utilizados para avaliação da resposta regenerativa. A determinação do peso dos lóbulos em regeneração é muito simples, porém não traduz realmente a proliferação celular, podendo decorrer da deposição de lipídeos, glicogênio e outros materiais, levando-se em conta que existe dificuldade em se obter um peso exato, em vista da reserva sanguínea do órgão, que induz neste, grande variação (WEBSTER e *col.*, 1947; WILSON, 1958). Sob condições bem controladas uma relação fígado-peso corpóreo pode ser utilizada como base para a avaliação da porcentagem dos lóbulos retirados e do peso dos lóbulos remanescentes (GRISHAM, 1960 a).

A determinação do índice mitótico tem sido um critério histológico largamente utilizado, porém apresenta várias causas de erro, conforme acentua BUCHER (1963) : o pico de mitoses é de curta duração e pode não ser captado; a amostra utilizada pode não ser demonstrativa do que está ocorrendo em todo o órgão; os resultados podem ser distorcidos pelos métodos histológicos utilizados, encurtando ou prolongando a duração das diversas fases da mitose; há um elemento subjetivo nas contagens. BARBASON (1970) realizou interessante trabalho sobre a influência do ritmo cicardiano sobre o índice mitótico do fígado em regeneração.

Pode ser avaliada a população de células, através da contagem de núcleos, em suspensões de homogenatos do órgão, conforme métodos descritos por BASS e *col.* (1956) e ROODYN (1960).

O emprego de traçadores radioativos tem sido muito utilizado, sendo empregados vários precursores dos ácidos nucleicos, mais comumente o ortofosfato  $P^{32}$  ou o ácido orótico, adenina e timidina marcados. A síntese do DNA tem sido avaliada "in vitro", em cortes de tecidos, ou "in vivo", após injeções de elementos marcados ao animal inteiro.

Por outro lado, outros critérios de avaliação do processo regenerativo têm sido empregados, quais sejam, a determinação de resíduo seco do órgão, proteínas, DNA, RNA e níveis enzimáticos diversos.

Para uma análise crítica dos diversos métodos acima referidos, ver *BUCHER* (1963).

Estudos realizados por *YEAKEL & FARRIS* (1947) mostraram que o fígado de ratos machos normais, tem peso proporcional ao peso do corpo e que nas fêmeas, a partir dos 600 dias de idade, a incidência de fígados com peso aumentado é grande. A partir desses dados, os referidos autores postularam que o fato das fêmeas apresentarem fígado com peso alto, talvez esteja relacionado com a presença de tumores que aparecem na pituitária, glândulas mamárias e útero das ratas, quando essas se encontram em idade avançada.

De grande interesse, justificando uma referência mais detalhada, estão diversos trabalhos que buscam a existência de fatores que ocorreriam no organismo ou em órgãos em crescimento e que seriam capazes de estimular a regeneração hepática e/ou o crescimento ou regeneração de diversos órgãos e tecidos.

Interessante trabalho foi realizado por *CHRISTENSEN & JACOBSEN* (1950), no qual tentaram paralisar as mitoses do fígado em regeneração, após hepatectomia parcial, por tratamento

dos animais com células hepáticas normais, a partir da observação de que há uma estabilização no índice mitótico em fígados normais. A hipótese não se confirmou, mas esses autores analisaram também o comportamento do fígado íntegro de ratos normais em parabiose com outros parcialmente hepatectomizados e observaram que os mesmos apresentavam índice mitótico aumentado. Isso fez com que os autores sugerissem a existência de alguma substância estimulante, que seria liberada pelo fígado dos animais parcialmente hepatectomizados.

Essa idéia foi também aproveitada por *BUCHER e col.* (1951), que usaram duplas e trincas de ratos em parabiose, realizando hepatectomia parcial em um deles, quando se tratava de duplas, e em dois deles, quando se tratava de trincas. As determinações de fosfatase alcalina, nitrogênio total, DNA e conteúdo em água, não mostraram diferença significativa e apenas um pequeno aumento nos valores do DNA foi detectado nos animais não hepatectomizados das duplas. Os autores sugeriram que no fígado de ratos, as mitoses iniciaram-se por alterações na composição química do sangue.

*MACDONALD e col.* (1963) estudaram os efeitos do plasma de ratos com fígado gorduroso, em ratos normais; plasma de ratos parcialmente hepatectomizados, em ratos normais; e plasma de ratos normais em ratos parcialmente hepatectomizados. Não observaram estimulação ou inibição do crescimento do fígado dos animais receptores. Verificaram, também, que não houve aumento do índice mitótico e nem da síntese de DNA no fígado de animais não hepatectomizados, quando esses animais se encontravam em parabiose com outros que sofreram hepatectomia parcial e esses últimos apresentaram uma síntese mais baixa de DNA, com relação ao esperado. Isso fez com que esses autores sugerissem que a união de ratos parcialmente hepatectomizados a outros, com fígado intacto, pode ter resultado em uma inibição de proliferação celular. Concluindo, os autores colocam

três importantes referenciais para o estudo dos fatores que modificam a regeneração hepática : - componentes do sangue (fatores humorais), que inibem ou possivelmente estimulam a regeneração hepática; - estado de atividade do fígado, no momento do estímulo à regeneração, que pode se modificar em condições de jejum ou alimentação; - fatores imunológicos, que parecem ser mais modificadores do que controladores da regeneração.

PASCHKIS (1958) mostra em seu trabalho de revisão, que a indução de mitoses não ocorre apenas no fígado. Outros tecidos também apresentam índice mitótico aumentado em animais parcialmente hepatectomizados. Certos tumores, por exemplo, têm o índice mitótico aumentado em animais com fígado em regeneração, o mesmo acontecendo com a córnea. Mostra, então, que apesar do fato de que o soro de animais parcialmente hepatectomizados não induzir mitoses nas glândulas parótidas, não se pode concluir que essa estimulação seja específica, ou seja, de órgão para órgão, como foi sugerido por FRIEDRICH-FREKSA & ZAKI (1954).

THEOLOGIEDES & ZAKI (1969) compararam o índice mitótico em fígado de camundongos normais e portadores de carcinoma mamário, parcialmente hepatectomizados. Verificaram que nos lóbulos hepáticos remanescentes, dos animais portadores de tumor, o índice mitótico apresentou um significativo aumento no período de 30 a 42 horas após a hepatectomia parcial. Nos animais controle, a elevação da proliferação celular aconteceu 48 horas após a cirurgia. Por outro lado, o tumor apresentou um decréscimo no índice mitótico 18 horas após a hepatectomia parcial, elevando-se novamente até níveis comparáveis aos de antes da cirurgia, às 48 horas.

SIGEL (1969), preocupado com os mecanismos reguladores da regeneração hepática, conclui que o fator regulador extracelular, provavelmente envolve fatores humorais e vascula

res. O fator humoral parece que inicia, favorece o crescimento e cessa a regeneração. O fator vascular é também importante, porque previne a deterioração do tecido hepático, mas não controla a regeneração por si só.

## II - PROPOSIÇÃO

Os estudos sobre regeneração hepática, conforme revisão da literatura, abordam essencialmente aspectos envolvidos com a regeneração morfológica e bioquímica do órgão. O autor considerou o interesse em se estudar, em paralelo com a regeneração morfológica, também a regeneração funcional do órgão. Com tal objetivo, procurou-se observar a correlação existente entre o tempo de sono causado pelo *metohexital* em ratos normais e em ratos submetidos à hepatectomia parcial; em tempos diferentes após a operação, avaliando-se, em paralelo, o peso dos lóbulos hepáticos em regeneração, seu resíduo seco e o teor de nitrogênio e proteína.

O *metohexital* foi escolhido por ser um barbitúrico de efeito hipnótico ultra curto, o qual decorre principalmente de sua metabolização por enzimas dos microsossomos hepáticos, envolvendo a oxidação de radicais ligados ao C<sub>5</sub> do anel do ácido barbitúrico e N-desmetilação.

### III - MATERIAL E MÉTODOS

#### 1 - ANIMAIS UTILIZADOS

As experiências foram realizadas em ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, criados em condições padronizadas desde o nascimento, com 120 dias de idade ao início das experiências e com pesos que variaram entre 222 e 313 gramas, também ao se iniciarem as experiências.

Os animais foram tratados com ração "Produtor" (Anderson Clayton S.A.) granulada, para animais de laboratório e receberam água "ad libitum".

#### 2 - PREPARO EXPERIMENTAL DOS ANIMAIS

##### Técnica de hepatectomia parcial

Os ratos, anestesiados com éter etílico, foram submetidos à hepatectomia parcial, conforme a técnica descrita por HIGGINS & ANDERSON (1931). Inicialmente, procedeu-se à depilação da região abdominal, ao longo da linha mediana, e à asepsia da mesma, através de pincelamento de Espadol cirúrgico.

A hepatectomia parcial foi realizada nas seguintes fases :

a) extrusão dos lóbulos hepáticos - após incisão ventral mediana de 3 a 4 cm, a partir do apêndice xifóide do externo, efetuou-se, através de compressão da região abdominal, a extrusão dos lóbulos hepáticos mediano e lateral esquerdo, expondo-os, desta maneira, para manobras posteriores, permanecendo na cavidade abdominal, os lóbulos lateral direito e

o pequeno caudado ("lôbulos residuais");

b) ligamento e excisão dos lóbulos hepáticos - efetuou-se ligamento dos lóbulos mediano e lateral esquerdo, com fio de algodão, procedendo-se à secção dos ligamentos suspensores e posterior extirpação dos lóbulos ("lôbulos retirados");

c) união dos bordos da incisão abdominal - realizou-se sutura, com fio de algodão, da musculatura em primeiro plano e da pele em segundo plano, com pontos contínuos.

Todo o material utilizado foi submetido à assepsia com Espadol cirúrgico.

### 3 - DETERMINAÇÃO DOS PESOS DOS LÓBULOS

#### Determinação de pesos úmidos

Imediatamente após a hepatectomia parcial, os lóbulos retirados foram esgotados o máximo possível e lavados por duas vezes em solução fisiológica, depois secados em papel de filtro e pesados.

#### Determinação dos pesos secos

Os lóbulos hepáticos foram levados à estufa a 110°C até atingirem peso constante. Nenhum lóbulo permaneceu na estufa por menos de 24 horas.

### 4 - DETERMINAÇÃO DOS TEMPOS DE SONO

O tempo de sono causado pelo *metohexital* foi determinado como se segue.

Imediatamente após a injeção intraperitoneal do hipnótico, cronometrava-se o tempo de indução ao sono, o qual era medido a partir do momento em que os ratos permaneciam imóveis em decúbito dorsal, revelando sono profundo. O acordar era determinado pelo momento em que os animais mudavam de posição, tendendo àquela normal, o que era sempre precedido de movimentos musculares esporádicos.

## 5 - SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Ao fim das experiências, os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical e esgorjados.

## 6 - DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO PROTEICO E DE PROTEÍNAS EM FÍGADO

### Método utilizado

O método utilizado para determinação desses parâmetros foi o de Kjeldhal, consistindo-se basicamente do seguinte procedimento :

a) introduz-se no balão de Kjeldhal de 100 ml, 100 mg de fígado seco e pulverizado e junta-se 7,0 ml de "mistura digestora" (ver Reativos utilizados);

b) coloca-se o balão no digestor de Kjeldhal e deixa-se o material digerir completamente, o que se constata pela descoloração da mistura;

c) adiciona-se 10 ml de água destilada ao conteúdo do balão e transfere-se-o para o microdestilador de Kjeldhal;

d) destila-se até dobrar o volume da "mistura receptora" (ver Reativos utilizados);

e) titula-se a solução obtida com  $H_2SO_4$  0,05 N. Cada mililitro de  $H_2SO_4$  0,05 N gasto, corresponde a  $0,0007 \text{ g}$  ( $7 \times 10^{-4}$ ) de nitrogênio amoniacal.

Para cálculo do teor proteico, transforma-se a quantidade de nitrogênio amoniacal em porcentagem de proteína, a partir do dado de que em 100 miligramas de proteínas, têm-se 16 mg de nitrogênio amoniacal.

#### Reativos utilizados

*Mistura digestora* - A mistura digestora foi preparada conforme a seguinte técnica:

Foram pesados 3,6 g de  $Na_2SO_3$ , 48 g de  $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$  e 4,0 g de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ . Essas quantidades foram dissolvidas em 175 ml de água destilada e a solução obtida foram adicionados 200 ml de  $H_2SO_4$  concentrado. A mistura obtida foi guardada em frasco com tampa esmerilhada após o resfriamento.

*Mistura receptora* - A mistura receptora foi preparada conforme a seguinte técnica :

Foram dissolvidos 30 g de  $H_3BO_3$  em 1.000 ml de água destilada. À solução de  $H_3BO_3$  foram juntados 20 ml de verde de bromocresol a 0,1 por cento e 2,0 ml de vermelho de metila a 0,1 por cento.

#### 7 - DROGAS UTILIZADAS

1. Para a indução de sono aos animais, foi utilizada

do o *metohexital* (Brietal sódico), do Laboratório Lilly.

2. Para a anestesia dos animais foi utilizado o eter etílico.
3. Para a preparação da solução salina foi utilizado o *cloreto de sódio*, J.T. Baker, preparado em solução a 0,8 por cento.
4. Para a preparação da mistura digestora foram utilizados : *sulfato de sódio* p.a. J.T. Baker; *sulfato de sódio deca-hidratado* p.a. J.T. Baker; *sulfato de cobre penta-hidratado* p.a. J.T. Baker; *ácido sulfúrico concentrado* p.a. J.T. Baker.
5. Para a preparação da mistura receptora foram utilizados : *ácido bórico* p.a. J.T. Baker; o *corante vermelho de metila* e o *corante verde de bromocresol*, ambos do Laboratório Merk.
6. Para a destilação do material digerido foi utilizado *hidróxido de sódio comercial 18 N*.

## 8 - MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Com a finalidade de estudar a correlação entre dados de peso seco e peso úmido, obtidos tanto da hepatectomia parcial como da hepatectomia total, foram feitas análises de regressão linear simples.

Os dados de tempo de sono, em função das horas deu corridas após a hepatectomia de peso seco, em função de tempo de sono, e de peso úmido, em função de tempo de sono, foram esu

tudados através de uma hipérbole.

O teste "t" de Student foi usado para comparar a média de tempos de sono, obtida para todos os animais antes da hepatectomia parcial, com a média do último tempo de sono, para o grupo de 30 dias.

O mesmo teste foi usado para comparar médias de tempo de sono, obtidas antes e duas horas após a hepatectomia parcial.

Foi feita uma análise de variância, com um critério de classificação e posterior teste de Tukey para comparar porcentagem média de proteína, obtida no lote controle, com as porcentagens médias dos lotes tratados.

#### IV - SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

##### 1 - GRUPOS CONTROLE

*Controle I* - Nesse grupo, constituído de 30 ratos, foram medidos os tempos de sono dos animais, pelo *metohexital*, antes de sofrerem hepatectomia parcial, conforme a técnica descrita no ítem "Determinação dos tempos de sono", deste trabalho.

*Controle II* - Nesse grupo, constituído de 8 animais, foi efetuada anestesia pelo éter etílico, incisão abdominal mediana, 3 a 4 cm a partir da apófise xifóide do externo e sutura com pontos contínuos em dois planos, músculo e pele, não sendo realizada a hepatectomia parcial.

Posteriormente, os animais foram submetidos a sono, induzido pelo *metohexital*, na dosagem de 40 mg/kg de peso, por via intraperitoneal. O esquema de administração seguido, foi o seguinte :

- 1ª dose - 2 horas antes da laparotomia.
- 2ª dose - 24 horas após a laparotomia.
- 3ª dose - 48 horas após a laparotomia.
- 4ª dose - 5 dias após a laparotomia.
- 5ª dose - 10 dias após a laparotomia.
- 6ª dose - 20 dias após a laparotomia.

##### 2 - RATOS PARCIALMENTE HEPATECTOMIZADOS, NOS QUAIS FORAM MEDIDOS OS TEMPOS DE SONO PELO METOHEXITAL

Os animais submetidos à hepatectomia parcial, foram distribuídos em 6 lotes de 5 ratos cada um. Essa distribuição

foi feita de acordo com o tempo decorrido entre a hepatectomia parcial e o sacrifício dos animais. Para todos esses ratos foi medido o tempo de sono, 24 horas antes da realização da hepatectomia parcial, cujos dados constituem o grupo controle I. Após a realização da hepatectomia parcial, os animais foram novamente submetidos ao sono induzido pelo *metohexital* e o esquema de administração foi o seguinte :

- 1ª dose - 2 horas após a hepatectomia parcial.
- 2ª dose - 24 horas após a hepatectomia parcial.
- 3ª dose - 48 horas após a hepatectomia parcial.
- 4ª dose - 5 dias após a hepatectomia parcial.
- 5ª dose - 10 dias após a hepatectomia parcial.
- 6ª dose - 20 dias após a hepatectomia parcial.
- 7ª dose - 30 dias após a hepatectomia parcial.

A distribuição dos lotes foi feita de acordo com o tempo decorrido entre a hepatectomia parcial e o sacrifício dos animais. Assim, os lotes ficaram distribuídos da seguinte maneira :

- Lote A - Animais que foram sacrificados 24 horas após a hepatectomia parcial.
- Lote B - Animais que foram sacrificados 48 horas após a hepatectomia parcial.
- Lote C - Animais que foram sacrificados 5 dias após a hepatectomia parcial.
- Lote D - Animais que foram sacrificados 10 dias após a hepatectomia parcial.
- Lote E - Animais que foram sacrificados 20 dias após a hepatectomia parcial.
- Lote F - Animais que foram sacrificados 30 dias após a hepatectomia parcial.

Os lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia parcial, bem como os provenientes da hepatectomia total, foram pesados logo após a excisão e levados à estufa a 110°C, para obtenção dos respectivos resíduos secos. Todos os resíduos secos foram também pesados e posteriormente pulverizados em gral de porcelana para doseamento de nitrogênio e proteína.

V - RESULTADOS

1 - GRUPOS CONTROLE

Grupo controle I

No grupo controle I, constituído de 30 ratos, foram medidos os tempos de sono dos animais pelo *metohexital*, antes de sofrerem hepatectomia parcial. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 1. A média de tempo de sono foi de 14,04.

Grupo controle II

Neste grupo, constituído de 8 ratos, os animais foram submetidos a sono induzido pelo *metohexital*, antes e 2, 24, 48 horas, 5, 10 e 20 dias após laparotomia, realizada em vigência da anestesia pelo éter etílico, apresentando os resultados que se encontram na Tabela 2.

Para tais dados, foi feito teste "t" de Student, cujo resultado "t" = 1,949 é não significante ao nível de 1%, o que significa que não existe diferença entre os tempos de sono desses animais, registrados antes e duas horas após a referida anestesia.

TABELA 1

Tempo de sono (em minutos) de ratos, antes da hepatectomia parcial, induzido por injeção intraperitoneal de *metohexital*, na dose de 40 mg/kg de peso.

ANIMAL	TEMPO DE SONO	ANIMAL	TEMPO DE SONO
1	8,0	16	16,0
2	17,0	17	15,5
3	----	18	12,5
4	9,5	19	14,0
5	12,0	20	13,0
6	11,5	21	13,5
7	10,5	22	19,0
8	12,5	23	9,5
9	9,0	24	36,5
10	13,5	25	32,0
11	----	26	12,5
12	18,5	27	14,5
13	13,0	28	10,5
14	7,5	29	10,5
15	7,0	30	----
$\bar{x} = 14,04$			

TABELA 2

Tempo de sono (em minutos) em ratos, induzido por injeção intraperitoneal de *metohexital*, na dose de 40 mg/kg de peso, antes e após 2, 24, 48 horas, 5, 10 e 20 dias de laparotomia.

ANIMAL	Antes da la- paro- tomia	TEMPO DE SONO, EM MINUTOS						
		TEMPO DECORRIDO APÓS LAPAROTOMIA						
		2 h	24 h	48 h	5 dias	10 dias	20 dias	$\bar{x}$
1	16,0	19,5	16,0	16,0	----	21,0	17,5	17,7
2	19,0	----	22,0	19,5	16,0	25,0	23,5	19,2
3	10,5	20,0	15,0	20,5	14,5	16,0	10,5	15,3
4	20,5	22,5	24,0	----	18,5	21,0	19,5	21,0
5	16,5	19,0	16,0	18,0	16,5	12,0	14,5	16,2
6	22,0	23,5	19,5	21,5	18,0	16,5	21,0	20,3
7	10,0	13,0	15,0	14,0	16,0	----	15,0	13,8
8	19,5	16,5	15,0	18,0	20,0	----	21,0	18,3
$\bar{x}$	16,75	19,14	17,81	18,21	17,07	18,58	17,81	

2 - RATOS PARCIALMENTE HEPATECTOMIZADOS, NOS QUAIS FORAM MEDIDOS OS TEMPOS DE SONO PELO METOHEXITAL

Os resultados deste grupo, constituído de 30 animais, divididos em seis subgrupos, conforme o tempo decorrido entre a hepatectomia e o sacrifício, encontram-se na Tabela 3. A análise estatística pelo teste "t" de Student, mostra que a diferença entre os tempos de sono, obtidos pela droga, antes e duas horas após a hepatectomia parcial, foi significativa ao nível de 1%, pois o "t" resultou em 13,323.

As médias de tempo de sono, obtidas para animais antes da hepatectomia parcial e 30 dias após, que constam na Tabela 3, foram também comparados através do teste "t" de Student. O resultado "t" = 7,83, é significativa ao nível de 5%.

TABELA 3

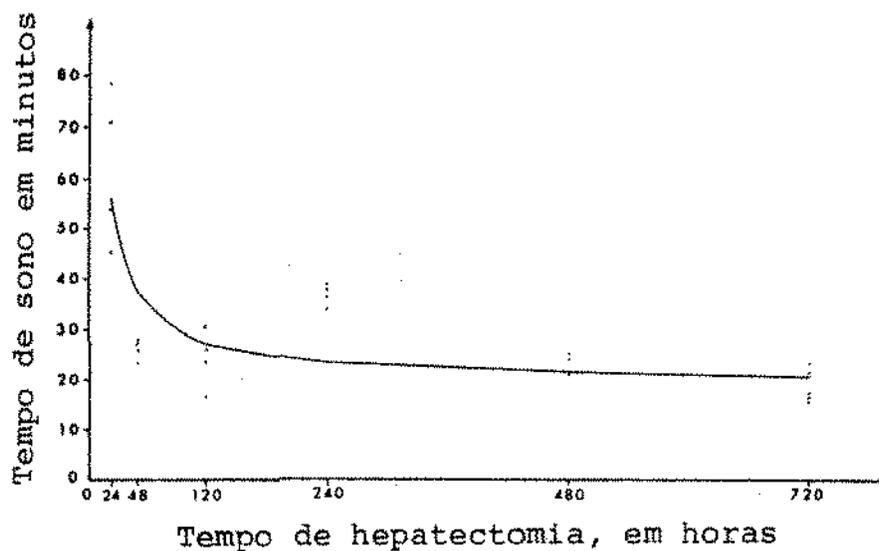
Tempo de sono dos ratos, antes e 2, 24, 48 horas, 5, 10, 20 e 30 dias após hepatectomia parcial, induzido por injeção intraperitoneal de 40 mg/kg de metohexital.

RATOS	Antes da he patec tomia	TEMPO DE SONO						
		TEMPO APÓS A HEPATECTOMIA PARCIAL						
		2 h	24 h	48 h	5 dias	10 dias	20 dias	30 dias
1	8,0	--	--					
2	17,0	70,0	71,0					
3	--	35,5	78,5					
4	9,5	29,5	54,0					
5	12,0	56,0	45,5					
6	11,5	58,5	77,0	27,5				
7	10,5	49,0	31,5	--				
8	12,0	56,0	44,5	23,5				
9	9,0	51,0	32,5	26,0				
10	13,5	43,0	36,0	28,0				
11	--	92,0	69,0	65,0	--			
12	18,5	53,0	41,0	11,5	30,5			
13	13,0	45,0	--	26,0	23,5			
14	7,5	47,0	38,5	25,0	26,0			
15	7,0	46,0	24,5	17,0	16,5			
16	16,0	65,0	--	38,5	31,5	28,5		
17	15,5	89,0	73,0	56,5	--	38,0		
18	12,5	80,0	67,0	47,0	38,5	--		
19	14,0	76,0	54,0	42,5	43,0	39,0		
20	13,0	73,0	63,0	45,0	37,0	34,0		
21	13,5	--	38,0	24,5	24,0	22,5	--	
22	19,0	--	68,0	55,5	37,0	--	--	
23	9,5	--	47,5	36,0	24,5	33,0	24,0	
24	36,5	--	63,5	47,0	22,5	--	21,0	
25	32,0	--	38,0	37,0	27,0	28,0	25,0	
26	12,5	--	50,0	44,0	27,5	29,0	27,0	21,5
27	14,5	--	75,5	--	32,0	37,0	24,0	23,5
28	10,5	--	35,5	--	19,5	20,0	14,0	15,5
29	10,5	--	43,5	35,0	24,0	19,5	18,0	17,5
30	--	--	32,5	27,0	20,5	26,5	22,0	16,5
$\bar{x}$	14,04	58,65	51,57	35,68	28,05	29,58	21,87	18,90

Para estudar o tempo de sono dos animais, em função das horas decorridas após a hepatectomia parcial, foi construída uma hipérbole de equação  $Y = a + b 1/x$ , utilizando os últimos valores de tempo de sono para cada animal.

As estimativas para  $a$  e  $b$  valem, respectivamente, 19,880 e 883,672. O coeficiente de determinação é 63,57% e o valor  $F$  é 38,39, significativo ao nível de 1%, mostrando que a hipérbole se ajusta bem aos dados. Essa equação e os dados que a originaram estão apresentados graficamente na Figura 1.

FIGURA 1



Variação dos tempos de sono dos ratos em função das horas decorridas após a hepatectomia parcial.

Média do tempo de sono antes de hepatectomia parcial :  $14,04 \pm 1,27$ .

Resultados obtidos na determinação do peso úmido, peso seco e no doseamento de nitrogênio e proteína, nos "lôbulos retirados" e nos "lôbulos residuais" em regeneração

1. Resultados obtidos nos "lôbulos retirados"

Na Tabela 4 encontram-se os dados de peso úmido e seco, dos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia parcial e também os teores em nitrogênio e proteínas.

TABELA 4

Peso úmido e de resíduo seco, em gramas, dos lóbulos hepáticos de ratos, provenientes de hepatectomia parcial ("lóbulos retirados") e teores em nitrogênio e proteínas dos resíduos secos.

RATOS	PESO ÚMIDO	PESO SECO	NITROGÊNIO (mg N/100 mg de resíduo seco)	PROTEÍNA (porcentagem no resíduo seco)
1	6,69	2,04	9,829	61,40
2	7,71	2,25	10,332	64,57
3	6,49	2,01	10,332	64,57
4	7,38	2,21	10,619	66,32
5	6,14	1,87	10,190	63,65
6	7,43	2,30	10,045	62,73
7	10,23	2,83	---	---
8	7,32	1,92	10,332	64,57
9	8,55	2,29	10,076	62,93
10	5,20	1,44	10,906	68,16
11	6,49	1,87	10,690	66,73
12	6,48	1,92	10,690	66,73
13	8,96	2,71	10,045	62,73
14	7,62	2,27	10,547	65,91
15	6,55	1,94	---	---
16	5,33	1,60	---	---
17	6,05	1,82	---	---
18	5,22	1,64	---	---
19	6,88	2,06	---	---
20	7,95	2,40	---	---
21	6,43	1,89	---	---
22	9,94	3,05	---	---
23	9,99	3,05	---	---
24	10,16	3,02	---	---
25	7,55	2,26	---	---
26	7,98	2,34	---	---
27	7,30	2,14	---	---
28	7,33	2,23	---	---
$\bar{x}$	7,68	2,19	10,35	64,69

2. Resultados obtidos nos "lôbulos residuais", em regeneração durante diferentes tempos

Na Tabela 5 encontram-se os dados de peso úmido e seco, dos lóbulos hepáticos provenientes de hepatectomia total (retirados os "lôbulos residuais") e também os teores em nitrogênio e proteínas para os resíduos secos dos mesmos lóbulos. Constan na tabela, os resultados obtidos com os lotes A, B, C, D, E e F (ver "Sistematização da pesquisa"), sacrificados respectivamente após 2, 24, 48 horas, 5, 10, 20 e 30 dias após a hepatectomia parcial.

TABELA 5

Peso úmido e resíduo seco, em gramas, dos lóbulos hepáticos provenientes de hepatectomia total e teores em nitrogênio e proteínas após 24, 48 horas, 5, 10, 20 e 30 dias da hepatectomia, correspondendo respectivamente aos lotes A, B, C, D, E e F.

RATOS	LOTE	PESO ÚMIDO	PESO SECO	NITROGÊNIO (mg N/100 mg de resíduo seco)	PROTEÍNA (porcentagem no resíduo seco)
1	A	3,96	1,07	10,690	66,73
2		3,64	1,01	10,762	67,57
3		4,12	1,20	10,332	64,57
4		4,19	1,25	9,542	59,55
5	B	4,35	1,17	10,690	66,73
6		7,37	2,12	10,690	56,73
7		4,59	1,33	10,116	63,14
8		5,82	1,58	10,332	64,57
9	C	5,20	1,44	----	---
10		6,72	1,87	11,695	73,08
11		6,18	1,69	11,838	73,90
12		6,94	2,01	11,045	68,98
13		6,03	1,70	11,045	68,98
14	D	6,25	1,79	12,150	75,93
15		5,25	1,42	12,590	78,68
16		6,29	1,77	12,290	76,81
17		5,94	1,68	12,220	76,37
18	E	6,35	1,86	12,450	77,81
19		11,08	3,29	11,790	73,71
20		8,56	2,42	11,940	74,63
21	F	10,56	3,12	11,350	70,93
22		10,47	3,11	11,860	74,12
23		7,90	2,34	11,640	73,06
24		10,50	3,10	11,200	70,00
25		9,17	2,72	11,350	70,93

Com relação ao teor proteico, o lote controle foi comparado com todos os lotes tratados, através de uma análise de variância. O valor F igual a 28,83 é significativa ao nível de 1%. Então, para comparar o lote controle, individualmente, com cada um dos tratados, foi calculada a diferença mínima significativa entre as médias. Pelo teste de Tukey, o resultado mostra que a partir do 5º dia após a realização da hepatectomia parcial, houve um aumento na porcentagem de proteínas do tecido hepático, sugerindo aumento da capacidade do órgão em metabolizar drogas, pois, esse aumento foi concomitante com o decréscimo no tempo de sono pelo *metohexital*. O aumento da porcentagem de proteínas tornou-se significativa a partir do quinto dia, atingindo o clímax no décimo dia, para, posteriormente, cair lentamente, atingindo, mesmo aos trinta dias, níveis significativamente maiores que o normal. As médias e coeficientes de variação relativos aos dados das Tabelas 4 e 5, encontram-se na Tabela 5a. A Figura 2 representa graficamente a relação entre teor de proteína no resíduo seco (em porcentagem) e o tempo decorrido após a hepatectomia parcial.

TABELA 5a

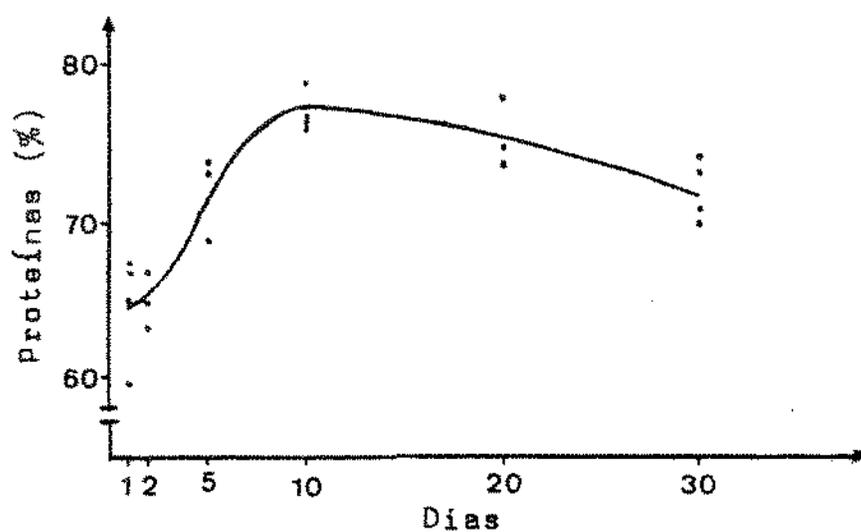
Médias obtidas para os dados das Tabelas 4\* e 5\*\*, relativas aos teores de proteínas (em porcentagem) obtidos para resíduos secos de lóbulos hepáticos.

GRUPO	TEMPO DE REGENERAÇÃO	$\bar{x}$
Controle I	-----	64,69
Lote A	24 horas	64,52
Lote B	48 horas	65,29
Lote C	5 dias	71,23
Lote D	10 dias	76,94
Lote E	20 dias	75,38
Lote F	30 dias	71,80

\* Grupo controle II - dados obtidos para os lóbulos retirados por ocasião da hepatectomia parcial.

\*\* Dados obtidos para os lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia total ("lóbulos residuais"), após diferentes tempos de regeneração.

FIGURA 2



Representação do teor de proteínas no re síduo seco com relação ao tempo, em dias, decorrido após a hepatectomia parcial, em ratos.

A partir dos dados que constam nas Tabelas 4 e 5, foram calculadas as relações  $S/U$ , onde  $S$  indica peso seco e  $U$  indica peso úmido dos lóbulos. Na Tabela 6, constam as relações concernentes aos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia parcial ("lóbulos retirados") e na Tabela 7, as relações concernentes aos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia total ("lóbulos residuais", em regeneração).

Dos resultados dessas relações, foram calculadas as médias, desvios padrão e coeficientes de variação. Os resultados desses cálculos encontram-se também nas Tabelas 6 e 7.

TABELA 6

Relações peso seco/peso úmido (S/U), relativas aos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia parcial, em ratos.

ANIMAL	S/U	ANIMAL	S/U	ANIMAL	S/U
1	-----	11	0,277	21	0,299
2	0,305	12	0,288	22	0,302
3	0,292	13	0,296	23	0,294
4	0,310	14	0,302	24	0,307
5	0,299	15	0,298	25	0,305
6	0,305	16	-----	26	0,297
7	0,310	17	0,296	27	0,299
8	0,277	18	0,300	28	0,293
9	0,262	19	0,301	29	0,293
10	0,268	20	0,314	30	0,304
$\bar{x} = 0,296$		$s = 0,012251$		$C.V. = 4,13873\%$	

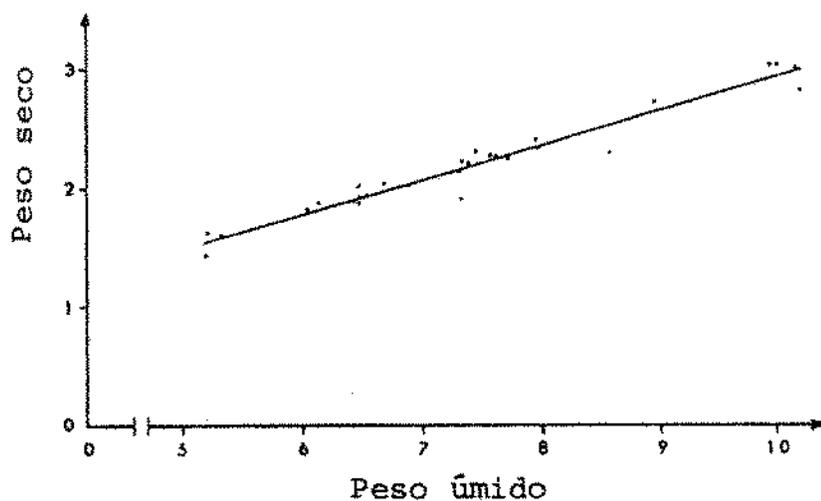
TABELA 7

Relações peso seco/peso úmido (S/U), relativas aos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia total, em ratos.

ANIMAL	S/U	ANIMAL	S/U	ANIMAL	S/U
1	-----	11	0,265	21	-----
2	0,270	12	0,278	22	-----
3	0,277	13	0,273	23	0,293
4	0,291	14	0,290	24	0,297
5	0,298	15	0,282	25	0,283
6	0,269	16	-----	26	0,295
7	0,233	17	0,286	27	0,297
8	0,288	18	0,270	28	0,296
9	0,290	19	0,281	29	0,295
10	0,271	20	0,283	30	0,297
$\bar{x}$ =	0,296	$s$ =	0,014464	C.V. =	5,1109%

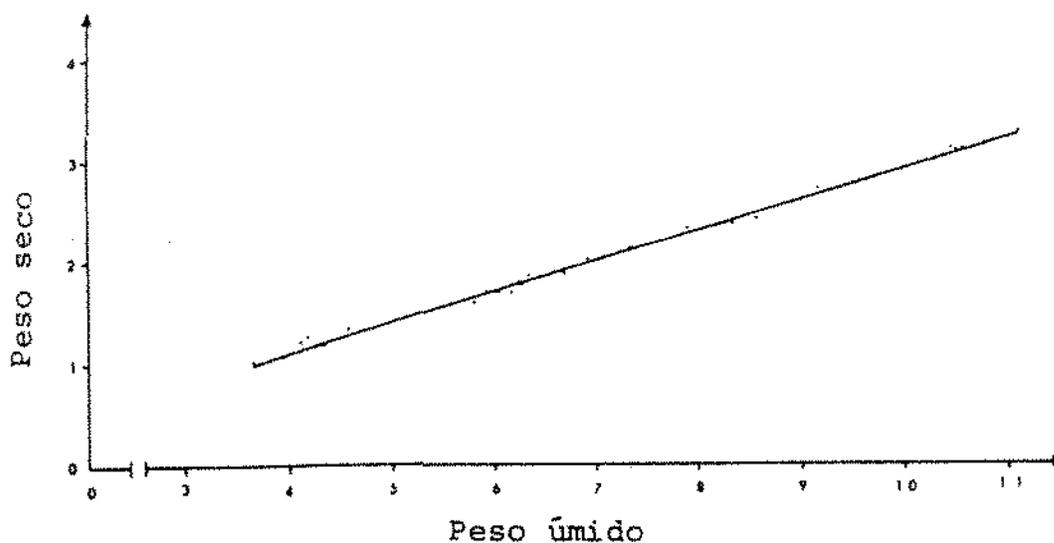
Considerando as variáveis, peso úmido e peso seco, obtidas dos lóbulos hepáticos provenientes de hepatectomia parcial e total, foram calculados os coeficientes de determinação e os valores F para tais coeficientes. Os resultados foram  $R^2 = 95,16\%$  e  $F = 511,05$ , para os da hepatectomia parcial e  $R^2 = 99,55\%$  e  $F = 5099,70$ , para os provenientes da hepatectomia total. Ambos os valores são significantes ao nível de 1%. Também foram calculados os coeficientes linear (a) e angular (b) das retas de regressão. Os resultados foram :  $a = 0,051$  e  $b = 0,289$ , para os dados da hepatectomia parcial e  $a = -0,135$  e  $b = 0,307$ , para os dados provenientes da hepatectomia total. As retas calculadas e os dados que a originaram são mostradas em gráfico nas Figuras 3 e 4.

FIGURA 3



Representação gráfica das relações peso seco/peso úmido, dos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia parcial ("lóbulos retirados"), em ratos.

FIGURA 4



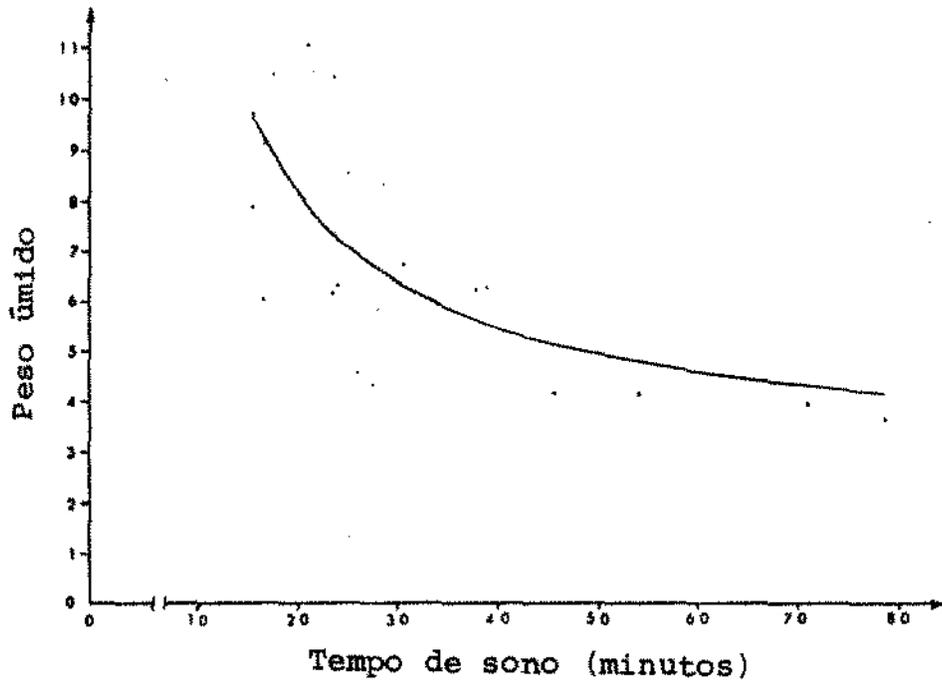
Representação gráfica das relações peso seco/peso úmido, dos lóbulos hepáticos provenientes da hepatectomia total ("lóbulos residuais", em regeneração), em ratos.

Também foram estudadas as relações entre peso úmido-tempo de sono e peso seco-tempo de sono, dos lóbulos residuais. Os dados de tempo de sono foram vistos na Tabela 3 e os de peso úmido e peso seco, na Tabela 5. Verificou-se que a hipérbole  $y = a + b \frac{1}{x}$  explica os fenômenos. Considerando-se, então, peso úmido ou peso seco como  $y$  e tempo de sono como  $x$ , foram calculados os coeficientes de determinação e os valores  $F$  para tais coeficientes. Para peso úmido e tempo de sono, foram obtidos  $R^2 = 44,30\%$  e  $F = 17,50$  e para peso seco e tempo de sono, foram obtidos  $R^2 = 44,44\%$  e  $F = 17,60$ .

Os valores  $F$ , significantes ao nível de 1%, indicam que existe correlação entre peso úmido e tempo de sono e entre peso seco e tempo de sono.

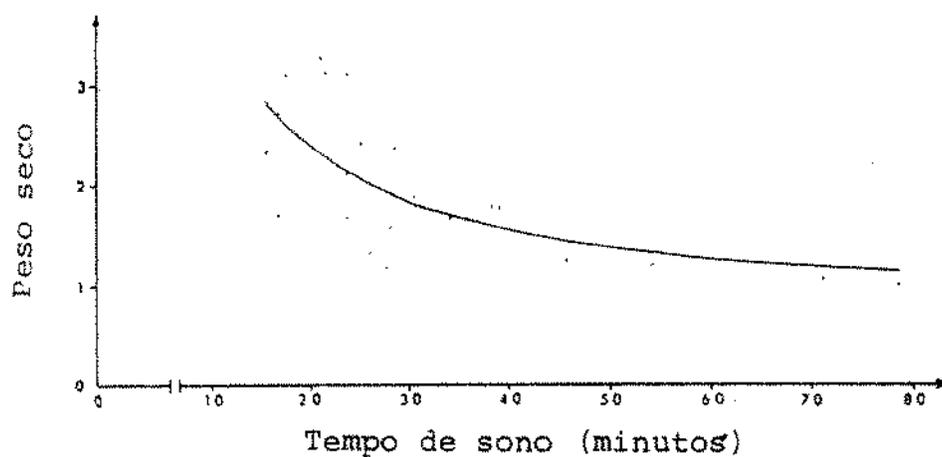
Com relação às variáveis peso úmido e tempo de sono, foram obtidos os coeficientes  $a = 2,826$  e  $b = 106,936$ . Para as variáveis peso seco e tempo de sono, os coeficientes resultaram em  $a = 0,737$  e  $b = 32,793$ . As hipérbolas calculadas e os dados que as originaram estão representados nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

FIGURA 5



Representação gráfica das relações entre peso úmido e tempo de sono para os "lobulões residuais", em regeneração, em ratos parcialmente hepatectomizados.

FIGURA 6



Representação gráfica das relações entre peso seco e tempo de sono, para os "lobulões residuais" em regeneração, em ratos parcialmente-hepatectomizados.

## VI - DISCUSSÃO

Foram medidos os tempos de sono de 27 animais, para posterior comparação com o tempo de sono dos mesmos, após a realização da hepatectomia parcial. Na dosagem utilizada de 40 mg/kg de peso, o *metohexital* provocou um sono médio de 14,04 minutos antes da hepatectomia parcial.

Essa medida é representativa, uma vez que o desvio padrão da média é 1,27 minutos. Portanto, é de se supor que a droga exerce um efeito comparável em ratos da mesma idade, se xo e raça, quando administrada em doses iguais.

Com a finalidade de mostrar que a anestesia pelo é ter etílico não influenciou no tempo de sono provocado pelo *metohe* *xital*, decorridas duas horas após a hepatectomia parcial, fo ram obtidos os tempos de sono de oito animais, duas horas após laparotomia realizada em vigência de anestesia pelo éter etíli co. Ficou realmente mostrado, através do teste "t" de Student, que não existe diferença significativa, ao nível de 1%, entre os tempos de sono desses animais, registrados antes e duas ho ras após a referida anestesia. Entretanto, quando o mesmo tes te foi aplicado para os animais parcialmente hepatectomizados, a diferença entre esses tempos de sono foi significativa ao ní vel de 1%, pois o teste "t" de Student resultou em 13,323, mos trando que a hepatectomia parcial influenciou marcadamente no efe ito da droga.

Quando se estudou o tempo de sono dos animais, em função das horas decorridas após a hepatectomia parcial, cons truiu-se uma hipérbole, cujo coeficiente de determinação é 61,13% e o valor F é 36,18, significativa ao nível de 1%, mos trando que a mesma se ajustou bem aos dados. A equação da hi pérbole ajustada, mostra que houve uma diminuição no tempo de

sono após a administração da droga, conforme decorreu o tempo após a hepatectomia parcial. A referida diminuição é brusca no início e tende a uma estabilização com o passar das horas. É de se supor que essa estabilização tenda a um valor próximo ou igual aos tempos de sono dos animais, obtidos antes da hepatectomia parcial. Isto porque o tempo de sono provocado pela droga, antes da hepatectomia parcial, cujos dados constam na Tabela 3, apresentou média 14,04 minutos e desvio padrão da média, 1,27 minutos. Entretanto, os últimos valores de tempo de sono, para o grupo de animais sacrificados aos trinta dias, apresentaram média 18,90 minutos e desvio padrão da média, 1,53 minutos. A comparação dessas médias, através do teste "t" de Student, é significativa ao nível de 5%, mostrando que os 30 dias, o tempo médio de sono dos animais, causado pela droga, ainda era superior ao tempo médio de sono obtido antes da hepatectomia parcial. Segundo BUCHER (1963), aos trinta dias de regeneração, o fígado de rato está completamente restaurado. Contudo, os presentes resultados mostram que a regeneração funcional, com relação ao metabolismo do *metohexital*, ainda não se estabeleceu.

Com a finalidade de saber se o fígado em regeneração aumentou de peso por ter aumentado a síntese de proteínas, foram obtidos os pesos secos (S) e pesos úmidos (U). Os dados obtidos possibilitaram concluir que o aumento de peso não foi devido ao aumento da quantidade em água, uma vez que os cálculos mostraram que existiu estreita correlação entre S/U. Era de se supor que isso aconteceria, porque os animais, além de terem sido criados sob condições dietéticas idênticas, eram do mesmo sexo e raça, apresentando apenas pequenas variações em idade e peso. Os valores baixos obtidos para os coeficientes de variação, que constam nas Tabelas 6 e 7, mostram que as relações S/U são bastante estáveis, ou seja, são sempre muito próximas da média. Os valores altamente significantes, obtidos para os coeficientes de determinação, que constam nas Tabelas

6 e 7, indicam estreita correlação entre S e U, tanto para os lóbulos provenientes da hepatectomia parcial, como para os provenientes da hepatectomia total. Note-se que os coeficientes angulares são valores bastante próximos, o que indica que as retas são praticamente paralelas. Obviamente, caso tivesse ocorrido um aumento de peso apenas por aumento do conteúdo em água, não teriam sido obtidas retas de regressão tão demonstrativas.

Ficou, também, estabelecido nesse trabalho, que a hepatectomia parcial e a própria regeneração do fígado, influíram marcadamente no efeito da droga, mostrando que realmente a sua metabolização é essencialmente hepática, como acontece com outros barbitúricos de ação ultra-curta. Os valores F, significantes ao nível de 1%, calculados no estudo das correlações entre tempo de sono e peso úmido, e tempo de sono e peso seco, mostram que as mesmas são negativas, isto é, aumentando o peso, úmido ou seco, em média, o tempo de sono diminui, mostrando que a metabolização da droga está aumentada.

O teor de proteína, no fígado em regeneração, elevou-se a partir do 59 dia após a hepatectomia parcial e se manteve elevado até o final da experimentação.

Dos resultados obtidos, pode-se inferir algumas correlações interessantes para a compreensão do fenômeno da regeneração hepática em alguns de seus aspectos. A regeneração ponderal começa a se dar imediatamente após a hepatectomia e atinge rapidamente os valores altos, em 5 a 10 dias. No entanto, justamente nesse período de rápido crescimento em peso, a capacidade funcional do fígado em metabolizar o *metohexital* é pequena (tempos de sono elevados). Essa redução de caráter funcional permanece mesmo após 30 dias após a hepatectomia. Esse comportamento dispar, entre regeneração ponderal e funcional, talvez possa ser explicado pelo fato de somente tardiamente o

correr elevação do teor proteico do fígado, que poderia ser o suporte para a regeneração completa da maquinaria metabólica e enzimática do órgão.

## VII - CONCLUSÕES

1. O tempo de sono causado pela injeção, em condições padronizadas, de *metohexital*, em ratos, foi maior em animais que sofreram hepatectomia parcial. O tempo de sono foi mais elevado desde a hepatectomia e depois diminuiu progressivamente até o trigésimo dia após a cirurgia.

2. Enquanto que a recuperação ponderal do fígado hepatectomizado se deu precoce e rapidamente, atingindo alto nível nos primeiros 5 dias de observação, o aumento do tempo de sono diminuiu mais lentamente e com características diferentes em relação à regeneração ponderal.

3. O aumento do teor proteico do fígado só foi verificado após o 59 dia de experimentação após a hepatectomia parcial e permaneceu elevado até trinta dias de experimentação.

4. O tempo de sono pelo *metohexital* pode ser sugerido como parâmetro para a avaliação de regeneração funcional do fígado após hepatectomia parcial.

VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ARCOS, J.C.; GOSCH, H.H.; ZICKAFOOSE, D. J. Biophys. Biochem. Cytol., 10 : 23, 1961. Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.
02. BARBASON, H.R. Influence du rythme de l'activité cicardienne sur l'index mitotique au cours de la régénération hépatique. C.R. Acad. Sci., Série D, Paris, 270 :3295-8, 1970.
03. BARTON, A.D. & LAIRD, A.K. Effects of amethopterin on nucleic acid metabolism in mitotic and non-mitotic growth. J. biol. Chem., 227 : 795-803, 1957.
04. BASS, A.D.; MCARDLE, A.H.; GRISHAM, J.W. Nuclei counts on rat liver homogenates. Science, 123 : 372-3, 1956.
05. BASTOS, W.P. & RAMOS, A.O. Incremento da regeneração hepática pela primidona. In : JORNADA CIENTÍFICA, 1.<sup>a</sup>, Botucatu, 1971. Anais. Botucatu, Fac. Ciências Médicas e Biológicas, 1971. p. 320.
06. BENGMARK, S.; OLSSON, R.; REHNSTROM, B. Late changes after partial hepatectomy in the normal rat. Scand. J. Gastroent., 3 : 525-8, 1968.
07. BERNHARD, W. Expl. Cell Res., (suppl. 6) : 17, 1958. Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.

08. \_\_\_\_\_ & ROUITLER, C. J. Biophys. Biochem. Cytol., 2 : 73, 1956. Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.
09. BUCHER, N.L.R. Regeneration of mammalian liver. Int.Rev. Cytol., 15 : 245-300, 1963.
10. \_\_\_\_\_; SCOTT, J.F.; AUB, J.C. Regeneration of the liver in parabiotic rats. Cancer Res., 11 : 457-65, 1951.
11. CARTER, D.B.; HOLMES, B.E.; MEE, L.K. Cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat. Acta radiol., 46 : 655-66, 1956.
12. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_ Biochem. J., 66 : 482. 1957. Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.
13. CHRISTENSEN, B.G. & JACOBSEN, E. Studies on liver regeneration. Acta med. scand., 234 : 103-8, 1950.
14. CONNEY, A.H. Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. Pharmac. Rev., 19 : 317-66, 1967.
15. \_\_\_\_\_; MILLER, E.C.; MILLER, J.A. The metabolism of methylated aminoazo dyes. V. Evidence for induction of enzyme synthesis in the rat by 3-methylcholanthrene. Cancer Res., 16 : 450-9, 1956.
16. \_\_\_\_\_ *et alii*. Adaptive increases in drug-metabolizing enzymes induced by phenobarbital and other drugs. J. Pharmac. exp. Ther., 130 : 1-8, 1960.

17. \_\_\_\_\_ & GILMAN, A.G. Puromycin inhibition of the enzyme induction by 3-methylcholanthrene and phenobarbital. J. biol. Chem., 238 : 3682-5, 1963.
18. COWARD, J.E.; MORSE, P.A.; GENTRY, G.A. Effect of methotrexate on pyrimidine metabolism in regenerating rat liver. Biochem. biophys. Acta, 155 : 605-8, 1968.
19. EDWARDS, J.L. *et alii*. Interrelations of DNA synthesis and cell division in normal and regenerating liver. Fed. Proc., 18 : 475, 1959.
20. EINHORN, S.L.; HIRSCHBERG, E.; GELLHORN, A. Effects of cortisone on regenerating rat liver. J. gen. Physiol., 37 : 559-79, 1954.
21. FERRARI, V. & HARKNESS, R.D. J. physiol., London, 124 : 443, 1954. Apud BUCHER, N.L.R., *op. cit.* ref. 9.
22. FOUTS, J.R.; ROGERS, L.A.; GRAM, T.E. The metabolism of drugs by hepatic microsomal enzymes. Studies on intramicrosomal distribution of enzymes and relationships between enzyme activity and structure of the hepatic endoplasmic reticulum. Exp. Molec. Pathol., 5 : 475-90, 1966.
23. FREY, I. *et alii*. Accelerated regeneration of the liver produced by phenobarbital. Archs. Pharmac. exp. Pathol., 259 : 167, 1968.
24. FRIEDRICH-FREKSA, H. & ZAKI, F.G. Spezifische mitose-auslo

- zung in normaler rattenleber durch serum von partiell hepatectomierten ratten. Z. Naturf., 96 : 394-7, 1954.
25. GARRIDO, M. Factores de regulacion en la regeneracion hepatica. Revta. clin. esp., 109 : 101-6, 1968.
26. GERSHBEIN, L.L. Pregnancy and liver regeneration in partially hepatectomized rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 99 ; 716-7, 1958.
27. GLINOS, A.D. In : McELROY, W.D. & GLASS, B., eds. The chemical basis of development. Baltimore, Md., John Hopkins, 1958. p. 813. Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.
28. GRISHAM, J.W. Deoxyribose nucleic acid synthesis and cell renewal in regeneration rat liver. J. Histochem. Cytochem., 8 ; 330, 1960a.
29. \_\_\_\_\_. A morphologic study of deoxyribose nucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver; autoradiography with thimidine-H<sup>3</sup>. Cancer Res., 22 ; 842-9, 1962.
30. HARKNESS, R.D. Changes in the liver of the rat after partial hepatectomy. J. physiol., 117 ; 267-77, 1952.
31. \_\_\_\_\_. Regeneration of liver. Br. med. Bull., 13: 87-93, 1957.

32. HIGGINS, G.M. & ANDERSON, R.M. Experimental pathology of the liver. 1. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Archs Path., 12 : 186-202, 1931.
33. ISLAMI, A.H. *et alii*. Regenerative hiperplasia of the li ver following major hepatectomy. Chemical analysis of the regenerated liver and comparative nuclear counts. Ann. Surg., 150 : 85-9, 1959.
34. KELLY, L.S. Some effects of colchicine on liver. Fed.Proc. 19 : 184, 1960. Abstract
35. LEONG, G.F.; PRESSOTTI, R.L.; BRAUER, R.W. Liver function in regeneration rat liver.  $C_2PO_2$  colloid uptake and bi le flow. Am. J. Physiol., 197 : 880-6, 1959.
36. MACDONALD, R.A.; ROGERS, A.E.; PECHET, G.S. Growth and re generation of the liver. Ann. N.Y. Acad. Sci., 111 : 70-86, 1963.
37. NORRIS, J.L.; BLANCHARD, J.; POVOLNY, C. Regeneration of rat liver at different ages. Metabolism of embryonic, neonatal and regenerating rat liver. Archs. Path., 34: 208-17, 1942.
38. OBERLING, C. The structure of cytoplasm. Int. Rev.Cytol., 8 : 1-31, 1959.
39. PASCHKIS, K.E. Growth promoting factors in tissues : a

- review. Cancer Res., 18 : 981-91, 1958.
40. \_\_\_\_\_ *et alii*. Effect of 5-fluoruracil on non-cancerous tissue growth. Cancer Res., 19 : 1196-203, 1959.
41. PETERS JR., T. Cytoplasmic particles and serum albumin synthesis. J. Histochem. Cytochem., 7 : 224-34, 1959.
42. RAAB, K.H. & WEBB, T.E. Inhibition of DNA synthesis in regenerating rat liver by hydrocortisone. Experientia, 25: 1240-2, 1969.
43. REMMER, H. & MERKER, H.J. Drug-induced changes in the liver endoplasmic reticulum : association with drug-metabolizing enzymes. Science, 142 : 1657-8, 1963.
44. ROODYN, D.B. A survey of metabolic studies on isolated mammalian nuclei. Int. Rev. Cytol., 8 : 279-344, 1960.
45. SCHULTZE, B. & OEHLERT, W. Autoradiographic investigation of incorporation of H<sup>3</sup>-thymidine into cells of rat and mouse. Science, 131 : 737-8, 1961.
46. SIGEL, B. The extracellular regulation of liver regeneration. J. surg. Res., 9 : 387-94, 1969.
47. SMITH, D.L. & ROBINSON, W.A. The effect of diphenylhydantoin sodium on liver restitution in the rat following hepatectomy. Proc. Western Pharmac. Soc., 5 : 9- 12, 1962.

48. STANLEY, L.E.; HIRSCHBERG, E.; GELLHORN, A. Effect of cortisone on regenerating rat liver. J. gen. Physiol., 37 : 559-79, 1954.
49. THEOLOGIDES, A. & ZAKI, G.F. Mitotic index in the regenerating liver of tumor-bearing mice. Cancer Res., 29 : 913-5, 1969.
50. WEBSTER, S.H.; LILJEGREN, E.J.; ZIMMER, D.J. Am. J. Anat. 81 : 477, 1947. Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.
51. WEINBREN, K. Regeneration of the liver. Gastroenterology, 37 : 657-8, 1959.
52. \_\_\_\_\_ & FITSCHEN, W. The influence of sodium fluoracetate on regeneration of the rat liver. Br. J. exp. Path., 40 : 107-12, 1959.
53. WILSON, J.W. In : BRAUER, R.W., ed. Liver function. Washington, Am. Inst. Biol. Sci., 1958. p. 175. (Publ.nº 4) Apud BUCHER, N.L.R., op. cit. ref. 9.
54. YEAKEL, E.H. & FARRIS, E.J. Changes with age in weight of the liver in wistar albino rats. Anat. Rec., 97 : 377-8, 1947.