

**LEZIUNILE IATROGENE ALE
CĂILOR BILIARE DUPĂ COLECISTECTOMIA
LAPAROSCOPICĂ. MODALITĂȚI DE
TRATAMENT CHIRURGICAL**

Rezumatul tezei de doctorat

Doctorand **Florin Vasile Mihăileanu**

Conducător de doctorat **Prof. Dr. Liviu Vlad**



CUPRINS

INTRODUCERE	12
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Anatomia căilor biliare extrahepatice	15
1.1. Anatomia aparatului diverticular biliar (vezicula biliară, artera cistică și ductul cistic)	17
1.2. Vascularizația veziculei biliare	17
2. Fiziopatologia icterului obstructiv	20
3. Leziuni iatrogene ale căilor biliare: modalități de producere, clasificare, modalități de tratament chirurgical	24
3.1. Mecanism de producere al leziunilor biliare	24
3.2. Clasificarea leziunilor biliare iatrogene	26
3.3. Tabloul clinic în leziunile iatrogene ale căilor biliare	30
3.4. Modalități de tratament chirurgical	32
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	44
2. Metodologie generală	45
3. Studiul 1 - Evaluarea strategiilor terapeutice și a rezultatelor postoperatorii în reparațiile biliare pentru leziunile iatrogene ale căilor biliare secundare colecistectomiei. Studiu clinic al unui lot de 183 pacienți cu leziuni biliare iatrogene rezolvate într-un singur centru chirurgical terțiar	46
3.1. Introducere	46
3.2. Obiective	46
3.3. Material și metodă	47
3.4. Rezultate	49
3.4.1. Date demografice	49
3.4.2. Date clinice	53
3.4.3. Date imagistice	55
3.4.4. Date biochimice	55

3.4.5. Date privind proveniența cazurilor și momentul reparației biliare	56
3.4.6. Date legate de tehnica chirurgicală reparatorie	61
3.4.7. Date operatorii	64
3.4.8. Date postoperatorii	65
3.5. Discuții	68
3.6. Concluzii	74
4. Studiul 2. Identificarea factorilor de risc implicați în producerea leziunilor biliare iatrogene. Studiu pe un lot de 21 pacienți cu leziuni iatrogene produse în același serviciu chirurgical	77
4.1. Introducere	77
4.2. Obiective	77
4.3. Material și metodă	78
4.4. Rezultate	78
4.5. Discuții	85
4.6. Concluzii	91
5. Studiul 3. Studiul anatomiei hepato-biliare la șobolanul de laborator. Model experimental de inducere a colestazei	93
5.1. Introducere	93
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	93
5.3. Material și metodă	94
5.3.1. Loturile de animale	94
5.3.2. Locul desfășurării experimentului	94
5.3.3. Sala de operație	95
5.3.4. Instrumentarul chirurgical	96
5.3.5. Dispozitive imagistice	96
5.3.6. Anestezice utilizate	97
5.3.7. Modul de realizare a anesteziei	97

5.3.8 Tehnica recoltării probelor biochimice	97
5.3.9 Tehnica chirurgicală de inducere a colestazei	99
5.3.10 Prelucrarea morfopatologică	100
5.4. Rezultate	101
5.4.1 Rezultate anatomice	101
5.4.2 Obiectivizarea inducerii colestazei	106
5.4.2.1 Rezultate clinice	106
5.4.2.2 Rezultate biochimice	108
5.4.2.3 Rezultate imagistice	109
5.4.2.4 Rezultate morfopatologice	110
5.4.2.4.1 Macroscopice	110
5.4.2.4.2 Histologice	112
5.5. Discuții	114
5.6. Concluzii	116
6. Studiul 4. Studiu experimental al viabilității anastomozelor bilio-digestive prin interpunerea unei grefe de PTFE (Politetrafluoretilenă) între calea biliară principală și duoden, la șobolanul de laborator	117
6.1 Introducere	117
6.2 Obiective	117
6.3 Material și metodă	118
6.3.1 Loturi de animale	118
6.3.2 Materiale de sutură și tipuri de proteză utilizate	118
6.3.3 Anestezie	119
6.3.4 Recoltarea probelor biochimice	120
6.3.5 Tehnica chirurgicală de realizare a bypass-ului	120
6.3.6 Prelucrare morfopatologică	122

6.4 Rezultate	122
6.4.1 Clinice	123
6.4.2 Biochimice	124
6.4.3 Aspecte morfopatologice postoperatorii	125
6.4.3.1 Macroscopice	125
6.4.3.2 Histologice	127
6.5 Discuții	131
6.6 Concluzii	132
7. Studiul 5. Studiu experimental al viabilității anastomozelor bilio-digestive prin interpunere de greșă venoasă allogenă heterotopică între calea biliară principală și duoden, la șobolanul de laborator	133
7.1 Introducere	133
7.2 Obiective	133
7.3 Material și metodă	134
7.3.1 Loturi de animale	134
7.3.2 Anestezie	135
7.3.3 Tehnica de recoltare a greșei venoase	135
7.3.4 Tehnica chirurgicală de realizare a bypass-ului	135
7.4 Rezultate	137
7.4.1 Rezultate clinice	137
7.4.2 Rezultate morfopatologice	137
7.4.2.1 Macroscopice	137
7.4.2.2 Histologice	138
7.5. Discuții	139
7.6. Concluzii	140
8. Discuții generale	141

Cuvinte cheie: colecistectomie laparoscopică, leziuni biliare iatrogene, factori de risc, tratament chirurgical, anastomoze bilio-digestive, grefe sintetice și venoase

Introducere

Colecistectomia laparoscopică reprezintă una dintre cele mai frecvente proceduri efectuate în serviciile chirurgicale din întreaga lume. Din nefericire această tehnică s-a asociat cu o incidență crescută a leziunilor biliare iatrogene. Pe lângă mecanismele cunoscute implicate în apariția leziunilor, noua tehnică aduce în discuție modalități noi de lezare a elementelor bilio-vasculare din zona triunghiului Calot. Leziunile biliare iatrogene se asociază cu o morbiditate ridicată atât pe termen scurt cât și pe termen lung, în final determinând o scădere a calității vieții pacienților. Incidența reală a acestor leziuni nu este pe deplin cunoscută deoarece manifestările clinice ale leziunilor biliare pot apărea și la câteva luni de la producere. În plus, din cauza implicațiilor legale, numărul leziunilor ar putea fi subraportat.

Leziunile biliare ocupă un loc aparte în patologia bilio-pancreatică, cu importanță deosebită atât prin modificările locale și răsunetul general în economia organismului, cât și prin problematica diagnosticului și tratamentului care impun un abord multidisciplinar. Rezolvarea acestora presupune munca în echipă, fiind implicați deopotrivă chirurgul, gastroenterologul, exploraționistul și anesteziștii.

În aceste condiții am considerat oportună o reevaluare a locului și indicațiilor tratamentului chirurgical în leziunile biliare iatrogene, cu stabilirea unor standarde terapeutice în funcție de tipul leziunilor și simptomatologia lor clinică

În partea generală a fost abordată anatomia căilor biliare extrahepatice și în special a variantelor anatomice. Nerecunoașterea acestora în timpul colecistectomiei laparoscopice ar putea influența actul operator predispunând la apariția complicațiilor intra și postoperatorii. De asemenea am urmărit modalitățile de producere, tabloul clinic precum și standardele actuale în ceea ce privește clasificarea și tratamentul chirurgical al leziunilor biliare iatrogene.

Partea de contribuție personală constă în 5 studii, două clinice și trei experimentale. În partea de cercetare clinică mi-am propus ca, valorificând experiența unui centru chirurgical terțiar, cu mare experiență în patologia hepato-biliară, să elucidz măcar în parte, problematica legată de tratamentul leziunilor biliare iatrogene. De asemenea am urmărit să identific factorii de risc implicați în apariția acestor leziuni și stabilirea unui consens în ceea ce privește măsurile ce trebuie adoptate pentru a reduce incidența acestor leziuni.

Partea de studii experimentale s-a desfășurat în cadrul în cadrul Biobazei de Cercetări Experimentale a UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca. În primul studiu al cercetării experimentale am urmărit obținerea la șobolanul de laborator a unui model de colestază intrahepatică indusă de ligatura distală a CBP și certificarea sindromului de colestază din punct de vedere clinic, paraclinic și histologic. Ultimele două studii au urmărit identificarea unor alternative terapeutice chirurgicale în obstrucțiile CBP. Pentru aceasta am interpus între coledoc și duoden o greafă sintetică, respectiv o greafă venoasă, apreciind ulterior viabilitatea acestor anastomoze și remisia sindromului de colestază.

Toate studiile din partea de contribuție personală scot în evidență complexitatea leziunilor biliare iatrogene cu dificultățile lor terapeutice, procedurile chirurgicale reprezentând adevărate provocări tehnice în care obținerea unor rezultate favorabile este condiționată în primul rând de experiența echipelor operatorii.

Studiul 1 Evaluarea strategiilor terapeutice și a rezultatelor postoperatorii în reparațiile biliare pentru leziunile iatrogene ale căilor biliare secundare colecistectomiei. Studiu clinic al unui lot de 183 pacienți cu leziuni biliare iatrogene rezolvate într-un singur centru chirurgical terțiar.

Obiective:

- identificarea semnelor/simptomelor predictive pentru leziunile biliare iatrogene
- identificarea metodelor de diagnostic utile în leziunile biliare
- identificarea momentului optim pentru instituirea tratamentului chirurgical
- analiza comparativă a diferitelor tehnici chirurgicale utilizate, cu evaluarea rezultatelor și sechelelor diferitelor metode de tratament chirurgical
- stabilirea unor indicații și contraindicații clare pentru fiecare metodă de tratament și obținerea unui consens terapeutic.

Material și Metodă: Cercetarea realizează un studiu retrospectiv pe un lot de 183 de pacienți internați în Clinica Chirurgie 3 din Cluj-Napoca, cu leziuni biliare iatrogene, secundare colecistectomiei. Pacienții au fost diagnosticați și tratați în acest serviciu în perioada 1987-2008.

Datele au fost extrase din: foile de observație clinică, protocoalele operatorii și în eventualitatea disponibilității lor, din biletele de externare, când aceștia au provenit din alte centre chirurgicale. Fiecărui bolnav din lotul studiat i s-a completat o fișă individuală, ce a cuprins datele demografice, datele legate de momentul internării și durata spitalizării, datele referitoare la tipul leziunilor și tipul intervențiilor chirurgicale, precum și datele legate de evoluția postoperatorie (morbiditya, mortalitatea și cauzele de deces).

Analiza statistică: Ca teste parametrice s-a utilizat testul Student pe două grupuri independente cu varianțe egale. Verificarea condiției de normalitate necesară testelor parametrice s-a bazat pe: grafice de cuantile (Q-Q plot), testul lui Shapiro-Wilk, calculul asimetriei, al coeficientului de boltire precum și al erorilor standard asociate lor. În cazul unor distribuții non-gausiene s-au utilizat testele neparametrice: testul Mann-Whitney pentru evaluarea diferențelor pe două grupuri și testul Kruskal-Wallis în cazul comparațiilor multiple. În studiul existenței unor posibile asocieri între două variabile nominale sau studiul diferențelor între proporțiile unei caracteristici pe grupuri s-au utilizat tabelele de contingență cu frecvențe absolute și relative (%) pe linii și coloane. Semnificația statistică a asocierii a fost dată de testul Chi Square sau de testul exact al lui Fisher.

Rezultate: Pacienții cu vârsta >50 ani au fost mai frecvent asociați cu colecistitele acute (test Hi-patrat, $p=0.03$). 136 de pacienți au prezentat leziuni biliare majore, corespunzând claselor D și E după Strasberg-Soper, iar 47 pacienți au avut leziuni minore aparținând claselor A-C. Leziunile majore au fost mai frecvent produse în urma unor colecistite acute (test Hi-patrat, $p=0.04$).

Vărsăturile și greșurile au fost mai frecvent asociate cu sexul feminin (test Hi-patrat, $p=0.035$) și au fost mai frecvente la pacienții cu leziuni minore ($p=0.029$).

Angiocolita a fost asociată mai frecvent pacienților >50 ani (test Hi-patrat, $p=0.006$) și cu leziuni biliare majore ($p=0.01$). Leziunile minore s-au manifestat mai frecvent prin coleperitoneu (test Hi-patrat, $p=0.01$).

Pacienții proveniți din afara Clinicii Chirurgie 3 au prezentat mai frecvent leziuni biliare majore (92%). Din 119 leziuni biliare produse în afara clinicii Chirurgie 3, la 67 de pacienți s-a încercat rezolvarea leziunii la nivelul centrului chirurgical unde s-a produs leziunea, fiind necesare 1-3 intervenții reparatorii. După adresarea cazurilor în centrul terțiar, atitudinea terapeutică a fost influențată de nivelul leziunii biliare, de prezența sepsei și de starea generală a pacientului.

Durata medie a spitalizării a fost de 17 zile. Anemia, hiperbilirubinemia și alterarea enzimelor de colestază au prelungit spitalizarea (test Mann – Whitney, $p=0.001$).

Cea mai frecventă dintre complicații a fost supurația de plagă (12.5%). Complicațiile cardio-reno-pulmonare au fost prezente la 8.7% din pacienți iar abcesul intraabdominal la 3.8% pacienți. Fistula anastomotică a fost

prezentă la 11%, 66,6 % din aceste fistule fiind asociate pacienților din afara clinicii, 78,6% dintre aceștia având una sau mai multe tentative de reparație chirurgicală înainte de a se adresa centrului terțiar, rata de complicații fiind mai mare la acești pacienți (test exact Fisher, $p=0.01$). Decesul a survenit la 6% din cazuri. Cauzele decesului au fost reprezentate la 6 pacienți de complicațiile cardio-pulmonare și cerebrale, restul deceselor datorându-se șocului septic. Rata decesului a fost influențată de numărul încercărilor de reparație efectuate înaintea adresării cazului în centrul terțiar, fiind proporțională cu numărul acestora (test exact Fisher, $p=0.01$).

Colestaza și hipoproteinemia au influențat apariția complicațiilor postoperatorii (test exact Fisher $p=0.008$) fiind corelate statistic cu apariția fistulelor anastomotice. Fistula anastomotică a apărut mai frecvent la pacienții cu antecedente de intervenții chirurgicale reparatorii efectuate în alte servicii chirurgicale fiind influențată de numărul încercărilor reparatorii (test Hi-patrat, $p=0.04$).

Concluzii

1. În colecistectomia laparoscopică, experiența echipei operatorii și curba de învățare influențează apariția leziunilor biliare, demonstrate în studiul nostru de numărul mare de cazuri provenite din alte servicii chirurgicale
2. Leziunile biliare majore, s-au asociat mai frecvent cu evoluții complicate, prelungind spitalizarea pacienților, 92% din leziunile provenite din alte centre chirurgicale fiind leziuni biliare majore.
3. La 56 % din cazurile adresate serviciului nostru chirurgical s-a încercat rezolvarea leziunii la nivelul centrului primar unde aceasta s-a produs. Fiecare încercare reparatorie a determinat alterarea elementelor biliare crescând riscul complicațiilor postoperatorii
4. Pacienții care au prezentat febră, angiocolită sau coleperitoneu au avut o spitalizare mai lungă. Anemia, hiperbilirubinemia și colestaza au prelungit spitalizarea pacienților.
5. Fistula anastomotică a apărut mai frecvent la pacienții cu intervenții chirurgicale reparatorii efectuate în alte servicii chirurgicale, fiind influențată de numărul încercărilor reparatorii. Anemia, hipoproteinemia, colestaza au predispus la apariția fistulei anastomotice
6. Utilizarea hepatico-jejunoanastomozelor pe ansă în Y a la Roux reprezintă abordul preferat în restabilirea continuității biliare, fiind asociată cu o rată de succes de 92%.
7. Reparația chirurgicală este posibilă la majoritatea pacienților și reprezintă cea mai bună metodă terapeutică pentru pacienții cu leziuni biliare oferind cele mai bune rezultate pe termen mediu și lung, cu o calitate a vieții mai bună comparativ cu alte metode de tratament

Studiul 2. Identificarea factorilor de risc implicați în producerea leziunilor biliare iatrogene. Studiu pe un lot de 21 pacienți cu leziuni iatrogene produse în același serviciu chirurgical

Obiective:

- identificarea și evaluarea factorilor de risc implicați în apariția leziunilor biliare secundare colecistectomiei laparoscopice
- stabilirea unui consens în ceea ce privește măsurile ce trebuie adoptate pentru a reduce incidența acestor leziuni

Material și metodă: am optat pentru un studiu retrospectiv, aplicat unei serii consecutive de 21 pacienți diagnosticați cu leziuni biliare iatrogene produse într-un serviciu chirurgical terțiar, în perioada 2003-2008. Obținerea datelor s-a realizat prin studierea fișelor de observație și a protocoalelor operatorii. Am urmărit datele demografice, detaliile intraoperatorii, cauzele producerii leziunilor și managementul chirurgical după producerea acestora, încercând să identific factorii de risc implicați în apariția leziunilor.

Rezultate: Toate leziunile au fost secundare colecistectomiei laparoscopice (12 leziuni tip A, 6 leziuni tip D, 2 leziuni E2 și 1 leziune E3). La 76.2% din pacienți leziunile biliare s-au produs ca urmare a unei intervenții chirurgicale efectuată în urgență.

19% din leziunile biliare au fost întâlnite la chirurghi tineri (< 50 colecistectomii laparoscopice/an), aceste leziuni biliare fiind rezultatul încrederii false pe care a avut-o chirurgul tânăr după efectuarea câtorva colecistectomii reușite. 81 % din leziunile biliare au fost produse în timpul unor colecistectomii efectuate de chirurghi cu experiență în patologia biliară, cu > 200 de colecistectomii laparoscopice. Factorii favorizanți în apariția leziunilor biliare au fost reprezentați de starea de oboseală a chirurgului, neatenția, indispoziția, cât și graba acestuia de a limita durata intervenției. Leziunile de tip D s-au datorat unei disecții excesive în apropierea CBP, utilizarea electrocauterului determinând leziuni termice la acest nivel. Leziunile majore din clasele E s-au produs ca urmare a unei interpretări greșite a anatomiei locale, operatorul confundând CBP cu cisticul, clipând-o sau secționând-o.

Durata medie de spitalizare a fost de 14.6 zile, hipoproteinemia prelungind spitalizarea pacienților (test Mann-Whitney, $p=0.028$).

Au fost întâlnite complicații la 4 cazuri: 1 deces prin șoc septic la o leziune de tip A, cu necroza bontului cistic, 2 fistule anastomotice (o leziune de tip D și una tip E), rezolvate prin refacerea anastomozei bilio-digestive și un caz (leziune tip D) la care s-a practicat inițial sutura leziunii și drenaj Kehr, ulterior efectuându-se o anastomoză biliodigestivă pentru stenoza CBP.

76.2% din leziunile biliare urmărite s-au produs ca urmare a unei intervenții chirurgicale efectuată în urgență. Intraoperator acestea s-au asociat cu o reacție inflamatorie în zona triunghiului Calot, cu fragilitate crescută a țesuturilor și prezența unei fibroze dense ce au făcut dificilă identificarea corectă a elementelor biliare.

Obezitatea a fost prezentă la 38% din pacienți și s-a caracterizat prin prezența unei adipozități viscerale marcate la nivelul triunghiului Calot. Acest lucru a determinat o disecție dificilă a elementelor bilio-vasculare, cu hemoragii difuze, încercările de hemostază favorizând leziunile biliare.

Factorii de risc major pot fi sistematizați astfel:

- lipsa de experiență a chirurgului (4 cazuri),
- pentru chirurghi cu experiență, lipsa de concentrare, neatenția și banalizarea colecistectomiei (17 cazuri),
- anatomia locală modificată prin remanierele inflamatorii, edemul de la nivelul triunghiului Calot (16 cazuri),
- folosirea excesivă a electrocauterului în zona triunghiului Calot (6 cazuri)

Concluzii

1. Prezența colecistitei acute prin prezența blocului subhepatic, fragilitatea țesuturilor și tendința la hemoragie reprezintă un factor de risc pentru apariția leziunilor biliare.
2. Obezitatea prin prezența adipozității periviscerale, poate favoriza apariția leziunilor iatrogene.
3. Majoritatea leziunilor nu au fost recunoscute la momentul operației sugerând că orientarea anatomică a reprezentat problema majoră
4. Factorii de risc major în leziunile căilor biliare pot fi sistematizați astfel: lipsa de experiență a chirurgului, lipsa de concentrare, neatenția, anatomia locală modificată prin remanierele inflamatorii, folosirea excesivă a electrocauterului
5. Cel mai bun tratament îl reprezintă prevenția prin acces chirurgical optim, expunerea corespunzătoare a triunghiului Calot, identificarea exactă a elementelor anatomice și utilizarea cu atenție a electrocauterului
6. Când situația nu este clară vom opta pentru o colecistectomie anterogradă care permite eliberarea colecistului din patul vezicular cu identificarea joncțiunii dintre colecist și canalul cistic

7. Conversia la chirurgia clasică, în situația unei diseccții dificile ar putea reduce numărul leziunilor secundare colecistectomiei laparoscopice și să diminueze gravitatea complicațiilor biliare
8. Când apare o astfel de leziune, chirurgul trebuie să facă o evaluare cinstită și să adreseze cazul cât mai urgent unui chirurg cu experiență în chirurgia biliară.

Studiul 3 Studiul anatomiei hepato-biliare la șobolanul de laborator. Model experimental de inducere a colestazei

Obiective:

- identificarea anatomiei hepato-biliare la șobolanul de laborator Wistar
- inducerea unei obstrucții biliare iatrogene prin ligatura distală a CBP
- aprecierea dilatației biliare secundare ligaturii CBP (clinică, biochimică, imagistică și morfopatologică)
- aprecierea din punct de vedere histopatologic a gradului de colestază intrahepatică, la șobolanii cu ligatură distală a CBP

Material și metodă: Am utilizat 38 șobolani din rasa Wistar, de sex masculin și o greutate de 200-280 grame. Toate animalele au fost menținute într-un mediu standard de laborator, în cadrul Biobazei de Cercetări Experimentale a UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca, experimentul fiind aprobat de către Comisia de Etică asupra experimentelor pe animale.

Animalele au fost împărțite în 2 loturi:

- Lotul 1 (N=3) subiecții la care am analizat anatomia complexului hepato-biliar.
- Lotul 2 (N=35) subiecții utilizați în obținerea modelului de inducere a colestazei și de apreciere a afectării hepatice, secundare ligaturii CBP. O parte din șobolanii lotului 2 au fost utilizați în studiile următoare ale cercetării experimentale. Lotul 2 a fost împărțit în 3 subloturi:
 - Lotul H (histopatologie, N=5) a fost utilizat pentru confirmarea histopatologică a colestazei intrahepatice. Aceștia au fost sacrificați prin plasarea în mediu de eter etilic, iar ficatul a fost recoltat pentru examenul microscopic.
 - Lotul P (proteză, N=20) a fost utilizat în studiul experimental în care am amplasat o grefă sintetică între CBP și duoden,
 - Lotul V (venă, N=10) a fost utilizat în studiul experimental în care am amplasat o grefă venoasă între aceleași structuri anatomice amintite.

Anestezicul folosit a fost un amestec de Ketamină 100 mg/kg și Xylazină 10 mg/kg, Evaluarea biochimică a constat în dozarea bilirubinei totale și directe, a transaminazelor, a fostatazei alcaline și a γ GT. Recoltarea probelor biologice s-a făcut de la nivelul plexului venos retroorbital.

Rezultate anatomice: Subiecții Lotului 1 au fost sacrificați prin plasare în mediu de eter etilic. Am urmărit segmentația ficatului, dimensiunile și caracteristicile căilor biliare, raporturile anatomice ale hilului. De asemenea am urmărit anatomia aparatului digestiv și raporturile ficatului cu aceste structuri anatomice.

Rezultate clinice: Subiecții au fost urmăriți clinic timp de 5-7 zile postoperator analizând modificările aportului alimentar, modificarea curbei ponderale, apariția urinilor colorice și colorația icterică a pavilioanelor urechilor.

Pe perioada de urmărire am constatat reducerea aportului alimentar în primele 3 zile postoperator și scăderea greutății în medie cu 7,4 g aceasta datorându-se stresului operator și reducerii aportului alimentar. Paraclinic, sindromul de colestază s-a caracterizat prin hepatocitoliză, creșterea FA și hiperbilirubinemie directă.

Rezultate imagistice: Toți subiecții au fost explorați ecografic după ligatura CBP. Rezultatele au arătat o creștere a dimensiunilor CBP postligatură, acestea variind între 0.5-0.9 cm, de 5-8 ori > decât cele inițiale.

Rezultate

Macroscopice: ficatul șobolanilor a fost palid, mărit în dimensiuni, datorită colestazei. De asemenea am constatat o impregnare icterică a organelor abdominale și o distensie marcată a arborelui biliar, cu dimensiuni ale CBP >0.5 cm.

Histologice: La 5-7 zile de la ligatură am observat o proliferare masivă a celulelor epiteliale biliare (colangiocite) cu formarea de neocanicule biliare la nivelul spațiilor porto-biliare și prezența unui infiltrat inflamator discret, cu predominanța mononuclearelor. La nivelul parenchimului hepatic datorită activării și mobilizării celulelor Kupfer a existat o proliferare neoductală minimă și hipercelularitate. Am evidențiat numeroase hepatocite cu infiltrate neutrofilice și canalicule de neoformație care confirmă instalarea proceselor de colestază intrahepatică postoperatorie după ligatura CBP.

Concluzii

- Pe modelul experimental, ligatura distală a CBP a determinat o distensie biliară importantă cu apariția clinică și paraclinică a sindromului icteric
- Prezența obstacolului a determinat în 1 săptămână alterarea semnificativă a valorii transaminazelor, bilirubinei și a enzimelor de colestază similare fiziopatologiei umane
- Ligatura completă a coledocului a determinat instalarea colestazei, manifestată prin hepatomegalie și o proliferare masivă a celulelor epiteliale biliare cu formarea de neocanicule biliare și cu prezența unui infiltrat inflamator discret, predominant cu mononucleare
- Modelul experimental este ușor de reprodus putând fi utilizat și la alte studii experimentale

Studiul 4 Studiu experimental al viabilității anastomozelor bilio-digestive prin interpunerea unei grefe de Politetrafluoretilenă între CBP și duoden, la șobolanul de laborator

Obiectiv: identificarea unei variante de reconstrucție biliară, pornind de la ideea utilizării la șobolanii de laborator a unor proteze de tip vascular ca partener de anastomoză bilio-digestivă.

Obiective secundare:

- realizarea decompresiei arborelui biliar supraiacent ligaturii prin realizarea unei derivații bilio-digestive latero-laterale între CBP și duoden,
- evaluarea clinică și paraclinică a subiecților, după realizarea bypass-ului bilio-digestiv,
- aprecierea din punct de vedere histopatologic a gradului de colestază intrahepatică, după realizarea anastomozei bilio-digestive de decompresie biliară.
- aprecierea histopatologică a complexului anastomotoc format de CBP, segmentul de greșă sintetică și duoden cu aprecierea tipului de epiteliu întâlnit la nivelul anastomozelor și a greșii sintetice

Material și metodă: Am utilizat 20 șobolani din rasa Wistar, de sex masculin cu o greutate de 200-280 grame. Lotul utilizat a fost inițial supus unei intervenții chirurgicale de ligatură distală a CBP. Pentru realizarea bypass-ului bilio-digestiv am utilizat o greșă de Politetrafluoretilenă cu un diametru 4 mm amplasată între coledoc și duoden.

Rezultate clinice: La 1 caz, la momentul laparotomiei am deschis accidental pleura dreaptă. Instalarea pneumotoracelui drept a determinat decesul. Patru șobolani au decedat imediat postoperator prin supradozaj anestezic. Trei șobolani au prezentat fistule anastomotice, doi la nivelul anastomozei biliare și unul la nivelul anastomozei digestive. Doi șobolani au fost sacrificați la 7 zile postoperator pentru verificarea patenței anastomozelor.

La șobolanii rămași (N=10) reluarea aportului hidric s-a făcut în primele 24 ore iar al celui alimentar în ziua 2 postoperator. Comportamentul șobolanilor a revenit la normal în medie la 6 zile postoperator. Urina s-a normalizat în medie la 3 zile postoperator demonstrând remisia icterului și funcționalitatea anastomozei bilio-digestive. Imediat postoperator animalele au prezentat scăderea greutății, în medie cu 10 grame. La 4 săptămâni toți șobolanii au depășit greutatea inițială.

Rezultate biochimice: Am dozat transaminazele, bilirubina și enzimele de colestază la 1 și 3 săptămâni postoperator. La 3 săptămâni valorile transaminazelor s-au apropiat de valorile martor, valorile bilirubinei și a FA scăzând semnificativ, confirmând ameliorarea sindromului icteric și a sindromului de colestază

Rezultate macroscopice: În toate cazurile, la 4 săptămâni, plaga chirurgicală era vindecată „per primam”.

La deschiderea cavității peritoneale, la o parte din subiecți am constatat prezența unui sindrom aderențial strâns, localizat subhepatic. Prezența sângerărilor intraoperatorii la momentul efectuării anastomozelor bilio-digestive, s-a asociat cu existența aderențelor subhepatice. La acestea s-a adăugat și reacția peritoneală determinată de prezența corpului străin (greafa sintetică). La un șobolan am constatat migrarea protezei în stomac, transduodenal iar la altul o obstrucție aproape completă la nivelul grefei prin litiază biliară secundară.

Rezultate Histologice: La nivelul peretelui intestinal, în jurul firelor de sutură s-a constatat formarea unei reacții granulomatoase, caracteristică granulomului de corp străin inert.

La nivelul duodenului am constatat prezența unei duodenite cronice cu prezența unui infiltrat inflamator dominat de mononucleare în mucoasă și submucoasă. Lumenul intern al protezei de PTFE nu a prezentat reacție de corp străin neexistând precipitare de acizi biliari la acest nivel. Proteza a fost acoperită la exterior de țesut conjunctiv, țesut de granulație și de neovascularizație, greafa fiind astfel bine tolerată de organism.

La nivel hepatic am constatat aspectul aproape normal al ficatului și că proliferările celulelor epiteliale biliare induse de ligatură au regresat la 4-8 săptămâni. La nivelul spațiului port am observat un infiltrat discret, compus predominant din mononucleare și o arhitectonică normală, cu regresia proliferării neoductale întâlnită la 5 zile de la ligatura CBP efectuată la modelul experimental de colestază. Secțiunile efectuate la nivelul tranșei anastomotice distale arată prezența la nivelul protezei, a celulelor epiteliale intestinale de tip prismatic cu nucleu bazal și cu vilozități, demonstrând dezvoltarea țesutului de tip intestinal pe fața internă a protezei și încorporarea grefei în țesuturile de vecinătate.

Concluzii:

- După realizarea bypass-ului, proliferările celulelor epiteliale biliare induse de ligatură au regresat, ficatul având un aspect aproape normal la 4-8 săptămâni postoperator.
- Probele hepatice și enzimele de colestază s-au normalizat postoperator demonstrând buna funcționare a anastomozelor
- Greafa sintetică a fost înglobată de țesutul perihepatic, la nivelul tranșei distale fiind identificat epiteliu de tip intestinal
- Folosirea protezelor vasculare de tip PTFE reprezintă o soluție fezabilă pentru leziunile iatrogene biliare acestea putând fi luate în considerare atunci când alte soluții terapeutice au eșuat.

Studiul 5 Studiu experimental al viabilității anastomozelor bilio-digestive prin interpunere de greafă venoasă allogenă heterotopică între calea biliară principală și duoden, la șobolanul de laborator

Obiectiv: aprecierea viabilității anastomozelor bilio-digestive prin interpunere unui segment de venă cavă inferioară între CBP și duoden.

Obiective secundare:

- realizarea decompresiei arborelui biliar prin interpunerea unui grefon venos între CBP și duoden.
- evaluarea clinică și paraclinică a subiecților după realizarea bypass-ului bilio-digestiv
- aprecierea histopatologică a gradului de colestază intrahepatică, după decompresia arborelui biliar
- aprecierea histopatologică a complexului anastomotic format de CBP, segmentul de greafă venoasă și duoden cu aprecierea tipului de epiteliu întâlnit la nivelul anastomozelor și a grefei venoase

Material și metodă: am folosit 20 șobolani din rasa Wistar, de sex masculin, cu greutate de 200-270 g. Șobolanii au fost repartizați în două subloturi, de 10 șobolani.

- Primul sublot: subiecții la care s-a efectuat ligatura CBP și ulterior anastomoza bilio-digestivă cu interpunerea unei grefe venoase între CBP și duoden.
- Al doilea sublot: șobolani de la care am recoltat segmentul de venă cavă inferioară reprezentând lotul donor din acest studiu.

Rezultate clinice: Un caz a prezentat hemoragie din vena portă și deces prin șoc hemoragic. Cei 9 șobolani rămași, au fost urmăriți clinic în perioada postoperatorie. Alimentația a fost reluată la 24 ore postoperator fiind normală în primele două zile, răspunsul la stimuli fiind de asemenea favorabil. Începând cu ziua 3 am constatat alterarea stării generale la toți șobolani, cu modificarea apetitului și refuzul alimentației. Obiectiv am constatat o creștere în volum a abdomenului și prezența semnelor peritonitice. Intraoperator am constatat prezența biliragiei la nivelul grefei venoase cu peritonită biliară generalizată. La momentul intervenției, anastomozele au fost patente, sursa biliragiei fiind reprezentată de peretele grefonului venos care era permeabil pentru bilă. Decesul a fost înregistrat la întreg lotul și s-a datorat șocului septic.

Rezultate morfopatologice: Aspectul macroscopic al ficatului a arătat prezența insuficienței hepatice severe cu șoc septic, examenul microscopic confirmând prezența peritonitei generalizate. Examenul histopatologic al ficatului a arătat prezența de focare de perihepatită fibrino-purulentă iar probele histologice recoltate de la nivelul grefei venoase au demonstrat prezența necrozei endoteliale cu reacție inflamatorie transmurală piogranulomatoasă și necroza tuturor straturilor grefei.

Concluzii

- Din punct de vedere tehnic, amplasarea unei grefe venoase între CBP și duoden este o variantă fezabilă pentru ocolirea unui obstacol biliar distal
- Grefa venoasă, utilizată singură, nu a fost o soluție viabilă pentru bypass-ul bilio-digestiv
- Probele histologice recoltate de la nivelul grefei venoase au demonstrat prezența necrozei endoteliale cu reacție inflamatorie transmurală piogranulomatoasă și necroza tuturor straturilor grefei
- Decesul a fost înregistrat la întreg lotul, secundar peritonitei biliare

IATROGENIC BILE DUCT INJURIES AFTER LAPAROSCOPIC CHOLECYSTECTOMY. MODALITIES OF SURGICAL TREATMENT

Abstract of the PhD thesis

PhD candidate **Florin Vasile Mihăileanu**

Thesis supervisor **Prof. Dr. Liviu Vlad**



TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	12
THE PRESENT DAY STAGE OF KNOWLEDGE	
1. The anatomy of the extrahepatic bile ducts	15
1.2. The anatomy of the diverticular biliary apparatus (the gallbladder, the cystic artery and the cystic duct)	17
1.2. The vascularisation of the gallbladder	17
2. The pathophysiology of the obstructive jaundice	20
3. Iatrogenic bile duct injuries: modalities of occurring, classification, modalities of surgical treatment	24
3.2 The occurring modalities of biliary lesions	24
3.2 The classification of iatrogenic bile duct injuries	26
3.3 The clinical presentation in iatrogenic bile duct injuries	30
3.4 Modalities of surgical treatment	32
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Work hypothesis/objectives	44
2. General methodology	45
3. Study 1 – Evaluation of the therapeutic strategies and of the postoperative results in biliary repairs for the iatrogenic bile duct injuries secondary to cholecystectomy. Clinical study of a group of 183 patients with iatrogenic bile duct injuries solved in a single tertiary surgical center	46
3.1. Introduction	46
3.2. Objectives	46
3.3. Material and method	47
3.4. Results	49
3.4.1. Demographic data	49
3.4.2. Clinical data	53
3.4.3. Imagistic data	55
3.4.4. Biochemical data	55
3.4.5. Data concerning the origin of the cases and the moment of the biliary repair	56

3.4.6. Data concerning the reparatory surgical technique	61
3.4.7. Surgical data	64
3.4.8 Postoperative data	65
3.5. Discussions	68
3.6. Conclusions	74
4. Study 2. Identification of the risk factors involved in the production of iatrogenic bile duct injuries. Study on a group of 21 patients with iatrogenic injuries produced in the same surgical service	77
4.1. Introduction	77
4.2. Objectives	77
4.3. Material and method	78
4.4. Results	78
4.5. Discussions	85
4.6. Conclusions	91
5. Study 3. The study of the hepatobiliary anatomy of the laboratory rat. Experimental model of induction of cholestasis	93
5.1. Introduction	93
5.2. Work hypothesis /objectives	93
5.3. Material and method	94
5.3.1 The groups of animals	94
5.3.2 The place of the experiment	94
5.3.3 The operating room	95
5.3.4 The surgical instruments	96
5.3.5 Imagistic devices	96
5.3.6 Anaesthetics used	97
5.3.7 The way of carrying out the anaesthesia	97
5.3.8 The technique of taking biochemical samples	97

5.3.9 The surgical technique of induction of cholestasis	99
5.3.10 Morphopathological processing	100
5.4. Results	101
5.4.1 Anatomical results	101
5.4.2 Objectivization of the induction of cholestasis	106
5.4.2.1 Clinical results	106
5.4.2.2 Biochemical results	108
5.4.2.3 Imagistic results	109
5.4.2.4 Morphopathological results	110
5.4.2.4.1 Macroscopic	110
5.4.2.4.2 Histological	112
5.5. Discussions	114
5.6. Conclusions	116
6. Study 4. Experimental study of the viability of biliodigestive anastomoses by the interposition of PTTE (Polytetrafluorethylen) grafts between the main biliary duct and the duodenum, in the laboratory rat	117
6.1 Introduction	117
6.2 Objectives	117
6.3 Material and method	118
6.3.1 Groups of animals	118
6.3.2 Suture materials and types of prosthesis used	118
6.3.3 Anaesthesia	119
6.3.4 The taking of biochemical samples	120
6.3.5 The surgical technique of the bypass	120
6.3.6 Morphopathological processing	122
6.4 Results	122

6.4.1 Clinical	123
6.4.2 Biochemical	124
6.4.3 Postoperative morphopathological aspects	125
6.4.3.1 Macroscopic	125
6.4.3.2 Histological	127
6.5 Discussions	131
6.6 Conclusions	132
7. Study 5. Experimental study of the viability of biliodigestive anastomoses by interposition of heterotopic allogene venous graft between the main bile duct and the duodenum, in the laboratory rat	133
7.1 Introduction	133
7.2 Objectives	133
7.3 Material and method	134
7.3.1 Groups of animals	134
7.3.2 Anaesthesia	135
7.3.3 The drawing technique of the venous graft	135
7.3.4 The surgical technique of carrying out of the bypass	135
7.4 Results	137
7.4.1 Clinical results	137
7.4.2 Morphopathological results	137
7.4.2.1 Macroscopic	137
7.4.2.2 Histological	138
7.5. Discussions	139
7.6. Conclusions	140
8. General discussions	141
9. Final conclusions	149

Key words: laparoscopic cholecystectomy, iatrogenic bile duct injuries, risk factors, surgical treatment, biliodigestive anastomoses, synthetic and venous grafts

Introduction

Laparoscopic cholecystectomy represents one of the most frequent procedures carried out in the surgical services of the entire world. Unfortunately this technique has been associated with an increased incidence of iatrogenic bile duct injuries. Besides the known mechanisms involved in the occurrence of lesions, the new technique brings to discussion new ways of injuring the biliovascular elements in the area of Calot's triangle. Iatrogenic biliary regions are associated with a high morbidity both short term and long term, finally determining a decrease of the patient's quality of life. The real incidence of these lesions is not fully known because the clinical signs of the biliary lesions can occur even a few months after their production. Additionally, because of the legal implications, the number of lesions may be under-reported.

Biliary lesions occupy a particular place in the biliopancreatic pathology, with a special importance both by the local modifications and the general echo in the economy of the body, and by the problem of the diagnosis and of the treatment which involve a multidisciplinary approach. Their solving presupposes teamwork, the surgeon, the gastroenterologist, the explorationist and the anesthetist being equally involved.

In these conditions we have considered appropriate to re-evaluate the place and indications of the surgical treatment in iatrogenic bile duct injuries, with the establishing of therapeutic standards according to the type of the lesions and their clinical symptoms.

In the general part the anatomy of the extrahepatic bile ducts was approached and especially that of the anatomic variants. Not recognizing these during laparoscopic cholecystectomy could influence the surgical act predisposing to the occurrence of intra and postoperative complications. We have also pursued the modalities of production, the clinical presentation as well as the present day standards concerning the classification and the surgical treatment of iatrogenic bile duct injuries.

The part of personal contribution consists of 5 studies, two clinical and three experimental ones. In the clinical research part I set out, capitalizing the experience of a tertiary surgical center, with a vast experience in hepatobiliary pathology, to elucidate at least partially the problems related to the treatment of iatrogenic bile duct injuries. I also pursued to identify the risk factors involved in the occurrence of these injuries and the establishing of a consensus concerning the measures which must be adopted to reduce the incidence of these injuries.

The part of experimental studies took place within the Experimental Research Biobase of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca. In the first study of the experimental research we pursued the obtaining in the laboratory rat of a model of intrahepatic cholestasis induced by the distal ligation of the main bile duct and the certification of the cholestasis syndrome from the clinical, paraclinical and histological point of view. The last two studies pursued the identification of surgical therapeutic alternatives in main bile duct obstructions. For this we interposed between the choledochus and the duodenum a synthetic graft, respectively a venous graft, subsequently appreciating the viability of these anastomoses and the remission of the cholestasis syndrome.

All the studies from the personal contribution part emphasize the complexity of iatrogenic bile duct injuries with their therapeutic difficulties, the surgical procedures representing true technical challenges where the obtaining of favourable results is conditioned in the first place by the experience of the surgical teams.

Study 1 – Evaluation of the therapeutic strategies and of the postoperative results in biliary repairs for the iatrogenic bile duct injuries secondary to cholecystectomy. Clinical study of a group of 183 patients with iatrogenic bile duct injuries solved in a single tertiary surgical center

Objectives:

- the identification of the predictive signs/symptoms for iatrogenic bile duct injuries
- the identification of the diagnosis methods useful in bile duct injuries
- the identification of the optima moment for the institution of the surgical treatment
- comparative analysis of the different surgical techniques used, with the evaluation of the results and of the after-effects of the different methods of surgical treatment
- the establishing of clear indications and contraindications for each method of treatment and the obtaining of a therapeutic consensus.

Material and Method: The research carries out a retrospective study on a group of 183 patients hospitalized in the Surgical Clinic No. 3 from Cluj-Napoca, with iatrogenic bile duct injuries, secondary to cholecystectomy. The patients were diagnosed and treated in this service during the period 1987-2008.

The data have been extracted from: the clinical observation sheets, the operatory protocols and in the event of their availability, from their hospital release notes, when they came from other surgical centers. Each patient from the studied group was completed an individual chart, which contained demographic data, data concerning the moment of hospitalization and the duration of hospitalization, data referring to the type of the lesions and the type of the surgical interventions, as well as the data concerning postoperative evolution (morbidity, mortality and the causes of death).

Statistical analysis: As parametric tests the Student test on two independent groups with equal variants has been used. The checking of the condition of normality necessary for the parametric tests was based on: quantile graphs (Q-Q plot), Shapiro-Wilk's test, the calculus of the asymmetry, of the curving coefficient as well as of the standard errors associated to them. In the case of non-Gaussian distributions non-parametric tests have been used: the Mann-Whitney test for the evaluation of the differences for two groups and the Kruskal-Wallis test in the case of multiple comparisons. In the study of the existence of possible associations between two nominal variables or the study of the differences between the proportions of a characteristic on groups we have used the contingency tables with absolute and relative (%) frequencies on lines and columns. The statistical significance of the association was given by the Chi Square test or by Fisher's exact test.

Results: Patients with the age <50 years were more frequently associated with acute cholecystites (Chi-square test=0.03). 136 patients presented major bile duct injuries, corresponding to the classes D and E according to Strasberg-Soper, and 47 patients had minor injuries belonging to the classes A-C. The major lesions were more frequently produced as a result of acute cholecystites (Chi-square test, p=0.04).

Vomiting and nausea were more frequently associated with the female gender (Chi-square test, p=0.035) and were more frequent in patients with minor injuries (p=0.029).

Angiocholitis was more frequently associated with patients >50 years (Chi-square test, p=0.006) and with major bile duct injuries (p=0.01). Minor injuries manifested more frequently by choleperitoneum (Chi-square test, p=0.01).

Patients from outside Surgical Clinic no. 3 more frequently presented major bile duct injuries (92%). Out of 119 bile duct injuries produced outside Surgical Clinic no. 3, in 67 patients the solving of the injury was attempted at the level of the surgical center where the injury occurred, 1-3 reparatory interventions being necessary. After addressing the cases in the tertiary center, the therapeutic attitude was influenced by the level of the bile duct injury, by the presence of sepsis and by the general state of the patient.

The average duration of hospitalization was of 17 days. Anaemia, hyperbilirubinemia and alteration of the cholestasis enzymes prolonged hospitalization (Mann – Whitney test, p=0.001).

The most frequent of the complications was wound suppuration (12.5%). Cardio-reno-pulmonary complications were present in 8.7% of the patients, and intraabdominal abscess in 3.8% of the patients. Anastomotic fistula was present in 11%, 66.6% of these fistulas being associated to patients from outside the clinic, 78.6% of these having one or more attempts of surgical repair before addressing the tertiary center, the rate of complications being higher with these patients (exact Fisher test, $p=0.01$). Death occurred in 6% of the cases. The causes of death were represented in 6 patients by cardio-pulmonary and cerebral complications, the rest of the deaths being due to septic shock. The death rate was influenced by the number of repair attempts carried out before addressing the case in the tertiary center, being proportional with their number (exact Fisher test, $p=0.01$).

Cholestasis and hypoproteinaemia influenced the occurrence of postoperative complications (exact Fisher test, $p=0.008$) being statistically correlated with the occurrence of anastomotic fistulas. Anastomotic fistulas more frequently occurred in patients with antecedents of reparatory surgical interventions carried out in other surgical services being influenced by the number of reparatory attempts (Chi-square test, $p=0.04$).

Conclusions

8. In laparoscopic cholecystectomy, the experience of the surgical team and the learning curve influence the occurrence of bile duct injuries, proved in our study by the large number of cases coming from other surgical services.
9. Major bile duct injuries were more frequently associated with complicated evolutions, prolonging the hospitalization of the patients, 92% of the injuries coming from other surgical centers being major bile duct injuries.
10. In 56% of the cases addressed to our surgical service the solving of the injury was attempted at the level of the primary center where it occurred. Each reparatory attempt determined the alteration of the biliary elements increasing the risk of postoperative complications.
11. Patients with fever, angiocholitis or choleperitoneum had a longer hospitalization. Anaemia, hyperbilirubinemia and cholestasis prolonged the hospitalization of patients.
12. The anastomotic fistula occurred more frequently in patients with reparatory surgical interventions carried out in other surgical services, being influenced by the number of reparatory attempts. Anaemia, hypoproteinaemia, cholestasis predisposed to the occurrence of the anastomotic fistula.
13. The use of hepaticojejunostomy en Roux-en-Y loop represents the approach preferred in the re-establishing of biliary continuity, being associated with a success rate of 92%.
14. Surgical repair is possible in the majority of patients and represents the best therapeutic method for patients with bile duct injuries offering the best medium and long-term results, with a better quality of life as compared to other methods of treatment.

Study 2. Identification of the risk factors involved in the production of iatrogenic bile duct injuries.

Study on a group of 21 patients with iatrogenic injuries produced in the same surgical service

Objectives:

- identification and evaluation of the risk factors involved in the occurrence of bile duct injuries secondary to laparoscopic cholecystectomy
- the establishing of a consensus concerning the measures to be adopted to reduce the incidence of these lesions

Material and method: I chose a retrospective study, applied to a consecutive series of 21 patients diagnosed with iatrogenic bile duct injuries produced in a tertiary surgical center, during the period 2003-2008. The obtaining of the data was carried out by the studying of the observation charts and of the surgical protocols. We pursued the demographic data, the intraoperative details, the causes for the production of the lesions and

the surgical management after their production, attempting to identify the risk factors involved in the occurrence of the injuries.

Results: All the injuries were secondary to laparoscopic cholecystectomy (12 type A injuries, 6 type D injuries, 2 E2 injuries and 1 E3 injury). In 76.2% of the patients the bile duct injuries were produced as a result of a surgical intervention carried out in emergency.

19% of the bile duct injuries were encountered with young surgeons (< 50 laparoscopic cholecystectomies/year), these bile duct injuries being the result of the false confidence that the young surgeon had after the carrying out of a few successful cholecystectomies. 81 % of the bile duct injuries were produced during cholecystectomies carried out by surgeons with experience in biliary pathology, with > 200 laparoscopic cholecystectomies. The favouring factors in the occurrence of bile duct injuries were represented by the surgeon's state of tiredness, lack of attention, indisposition, as well as the surgeon's hurry to limit the duration of the intervention. Type D lesions were due to an excessive dissection in the vicinity of the main bile duct, the use of the electrocautery determining thermal injuries at this level. Major class E injuries were produced as a result of a misinterpretation of the local anatomy, the surgeon confusing the main bile duct with the cystic, clipping or sectioning it.

The average duration of the hospitalization was of 14.6 days, hypoproteinaemia prolonging the hospitalization of patients (Mann-Whitney test, $p=0.028$).

Complications were encountered in 4 cases: 1 death by septic shock at a type A injury, with necrosis of the cyst stub, 2 anastomotic fistulas (a type D injury and a type E one), solved by the repair of the biliodigestive anastomosis and one case (type D injury) where initially the suture of the injury was practiced and Kehr drainage, a biliodigestive anastomosis being carried out for the stenosis of the main bile duct.

76.2% of the bile duct injuries studied were produced as a consequence of a surgical intervention carried out in emergency. During surgery these were associated with an inflammatory reaction in the area of Calot's triangle, with increased frailty of the tissues and the presence of a dense fibrosis which made it difficult to correctly identify the biliary elements.

Obesity was present in 38% of the patients and was characterized by the presence of visceral adiposities marked at the level of Calot's triangle. This determined a difficult dissection of the biliovascular elements, with diffuse haemorrhages, the attempts of haemostasis favouring bile duct injuries.

The major risk factors can be systematized as follows:

- the surgeon's lack of experience (4 cases),
- for surgeons with experience, lack of focus, lack of attention and the trivialization of the cholecystectomy (17 cases),
- local anatomy modified by the inflammatory disturbances, oedema at the level of Calot's triangle (16 cases),
- the excessive use of the electrocautery in the area of Calot's triangle (6 cases)

Conclusions

9. The presence of acute cholecystitis by the presence of the subhepatic block, the frailty of the tissues and the tendency towards haemorrhage represents a risk factor for the occurrence of bile duct injuries.
10. Obesity by the presence perivisceral adiposities, may favour the occurrence of iatrogenic injuries.
11. Most injuries were not recognized at the moment of the surgery suggesting that the anatomic orientation represented a major problem.
12. The major risk factors in bile duct injuries can be systematized as follows: the surgeon's lack of experience, the lack of focus, the lack of attention, local anatomy modified by the inflammatory disturbances, the excessive use of the electrocautery

13. The best treatment is represented by the prevention by optimal surgical access, the appropriate exposure of Calot's triangle, the exact identification of the anatomic elements and the attentive use of the electrocautery
14. When the situation is not clear we shall choose anterograde cholecystectomy which allows the freeing of the cholecyst from the vesicle bed with the identification of the junction between the cholecyst and the cystic channel
15. The conversion to classic surgery, in the situation of a difficult dissection could reduce the number of injuries secondary to laparoscopic cholecystectomy and diminish the severity of the biliary complications
16. When such an injury occurs, the surgeon must make an honest evaluation and address the case as urgently as possible to a surgeon with experience in biliary surgery.

Study 3. The study of the hepatobiliary anatomy of the laboratory rat. Experimental model of induction of cholestasis

Objectives:

- identification of the hepato-biliary anatomy of the Wistar laboratory rat
- induction of a iatrogenic bile duct obstruction by the distal ligation of the main bile duct
- assessing of the bile duct dilation secondary to the ligation of the main bile duct (clinical, biochemical, imagistic and morphopathological)
- assessment from the histopathological point of view of the degree of intrahepatic cholestasis, in rats with distal ligation of the main bile duct

Material and method: We used 38 rats of the Wistar race, male and with a weight of 200-280 grams. All animals were maintained in a standard laboratory environment, within the Experimental Research Biobase of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca, the experiment being approved by the Ethics Commission on animal experiments.

The animals were divided into 2 groups:

- Group 1 (N=3) subjects where we analyzed the anatomy of the hepatobiliary complex.
- Group 2 (N=35) subjects used in the obtaining of the model for induction of cholestasis and assessment of hepatic affection, secondary to the ligation of the main bile duct. A part of the rats of group 2 were used in the following studies of the experimental research. Group 2 was divided into 3 subgroups:
 - Group H (histopathology, N=5) was used for the histopathological confirmation of intrahepatic cholestasis. They were sacrificed by the placing in an environment of ethylic ether, and the liver was removed for the microscopic exam.
 - Group P (prosthesis, N=20) was used in the experimental study where we placed a synthetic graft between the main bile duct and the duodenum,
 - Group V (vein, N=10) was used in the experimental study where we placed a venous graft between the same anatomic structures mentioned.

The anaesthetic used was a mixture of Ketamine 100 mg/kg and Xylazine 10 mg/kg, The biochemical evaluation consisted of the dosing of total and direct bilirubin, of the transaminases, of alkaline phosphatase and of the γ GT. The taking of the biological samples was carried out at the level of the retro-orbital venous plexus.

Anatomic results: The subjects of Group 1 were sacrificed by the placing in an environment of ethylic ether. We followed the segmenting of the liver, the dimensions and characteristics of the bile ducts, the anatomic

relations of the hilum. We also followed the anatomy of the digestive apparatus and the relations of the liver with these anatomic structures.

Clinical results: The subjects were clinically followed for 5-7 days after surgery analyzing the modifications of the food supply, the modification of the weight curve, the occurrence of coluric urines and the jaundice coloring of the ear pavilions.

During this period we found the reduction of the food input during the first 3 days after surgery and the reduction of the weight on average with 7.4 g, this being due to operatory stress and the reduction of the food input.

From the paraclinical point of view, the cholestasis syndrome was characterized by hepatocytolysis, increase of the FA and direct hyperbilirubinemy.

Imagistic results: All the subjects were explored via ultrasound after the ligation of the main bile duct. The results showed an increase of the postligature dimensions of the main bile duct, there varying between 0.5-0.9 cm, 5-8 times > than the initial ones.

Macroscopic results: the liver of the rats was pale, enlarged due to the cholestasis. We also found a jaundice impregnation of the abdominal organs and a marked distension of the biliary tree, with dimensions of the main bile duct >0.5 cm.

Histological results: 5-7 days after the ligation we noticed a massive proliferation of the biliary epithelial cells (cholangiocytes) with the formation of biliary neocaniculi at the level of the porto-biliary spaces and the presence of a discrete inflammatory infiltrate, with the predominance of mononuclears. At the level of the hepatic parenchyma due to the activation and mobilization of the Kupfer cells there was a minimal neoductal proliferation and hypercellularity. We highlighted several hepatocytes with neutrophilic infiltrations and neoformation canaliculi which confirm the installation of the processes of postoperative intrahepatic cholestasis after the ligation of the main hepatic ducts.

Conclusions

- On the experimental model, the distal ligation of the main bile duct determined an important biliary distension with the clinical and paraclinical occurrence of the jaundice syndrome
- The presence of the obstacle determined in 1 week the significant alteration of the value of the transaminases, of bilirubin and of the cholestasis enzymes similar to human physiopathology
- The complete ligation of the choledochus determined the installation of cholestasis, manifested by hepatomegaly and a massive proliferation of the biliary epithelial cells with the formation of biliary canaliculi and with the presence of a discrete inflammatory infiltrate, predominantly with mononuclears
- The experimental model is easy to reproduce being usable also in other experimental studies

Study 4. Experimental study of the viability of biliodigestive anastomoses by the interposition of Polytetrafluorethylen grafts between the main biliary duct and the duodenum, in the laboratory rat

Objective: the identification of a biliary reconstruction variant, starting from the idea of the use in laboratory rats of vascular type prostheses as biliodigestive anastomosis partner.

Secondary objectives:

- the realization of the decompression of the biliary tree subjacent to the ligation by the realization of a latero-lateral biliodigestive derivation between the main bile duct and the duodenum,
- the clinical and paraclinical evaluation of the subjects, after the realization of the biliodigestive bypass,
- appreciation from the hystopatological point of view of the degree of intrahepatic cholestasis, after the realization of the biliodigestive anastomosis of biliary decompression.

- the histopathological assessment of the anastomotic complex formed by the main bile duct, the segment of synthetic graft and the duodenum with the assessment of the type of epithelium encountered at the level of the anastomoses and of the synthetic graft.

Material and method: We used 20 rats of the Wistar race, of male gender with a weight of 200-280 grams. The group used initially underwent a surgical intervention of distal ligation of the main bile duct. For the realization of the biliodigestive bypass we used a polytetrafluorethylen graft with a diameter of 4 mm placed between the choledochus and the duodenum.

Clinical results: In 1 case, at the moment of the laparotomy we accidentally opened the right pleura. The installation of the right pneumothorax caused the death. Four rats died immediately after surgery from anaesthetic overdose. Three rats presented anastomotic fistulas, two at the level of the biliary anastomosis and one at the level of the digestive anastomosis. Two rats were sacrificed 7 days after surgery to check the patent period of the anastomoses.

In the remaining rats (N=10) the recommencing of the hydric intake took place within the first 24 hours and that of the food intake on the 2nd day after surgery. The behaviour of the rats became normal again on the average 6 days after surgery. The urine became normal on the average 3 days after surgery proving the remission of the jaundice and the functionality of the biliodigestive anastomosis. Immediately after surgery the animals had an average decrease of the weight of 10 grams. At 4 weeks all the rats exceeded the initial weight.

Biochemical results: We measured out the transaminases, bilirubin and the cholestasis enzymes 1 and 3 weeks after surgery. After 3 weeks the values of the transaminases were close to the control values, the values of the bilirubin and FA decreasing significantly, confirming the improvement of the jaundice syndrome and of the cholestasis syndrome.

Macroscopic results: In all the cases, after 4 weeks, the surgical wound was healed “per primam”.

At the opening of the peritoneal cavity, in a part of the subjects we found the presence of a tight adherence syndrome, localized subhepatically. The presence of intraoperative bleedings at the moment of the biliodigestive anastomosis was associated with the existence of subhepatic adhesions. To these the peritoneal reaction determined by the presence of the foreign object (synthetic graft) was added. In one rat we found the migration of the prosthesis in the stomach, in a transduodenal manner, and in another an almost complete obstruction at the level of the graft by secondary biliary lithiasis.

Histological Results: At the level of the intestinal wall, around the sutures we found the formation of a granulomatous reaction, characteristic for inert foreign object granuloma.

At the level of the duodenum we found the presence of a chronic duodenitis with the presence of an inflammatory infiltrate dominated by mononuclears in the mucous membrane and the submucous membrane. The internal lumen of the PTFE prosthesis presented no foreign object reaction there being no precipitation of biliary acids at this level. The prosthesis was covered on the outside by conjunctive tissue, granulation and neovascularisation tissue, the graft being thus well tolerated by the body.

At the hepatic level we found the almost normal aspect of the liver and that the proliferations of the biliary epithelial cells induced by the ligation regressed at 4-8 weeks. At the level of the porta space we observed a discreet infiltrate composed predominantly of mononuclears and a normal architecture, with the regression of the neoductal proliferation encountered at 5 days from the ligation of the main bile duct carried out at the experimental model of cholestasis. The sections carried out at the level of the distal anastomotic tranche show the presence at the level of the prosthesis of intestinal epithelial cells of the prismatic type with a basal nucleus and with villousities, proving the development of the intestinal type tissue on the internal face of the prosthesis and the incorporation of the graft in the vicinity tissues.

Conclusions:

- After the making or the bypass, the proliferations of the biliary epithelial cells induced by the ligature regressed, the liver having an almost normal aspect 4-8 weeks after surgery.
- The hepatic samples and the cholestasis enzymes normalized after surgery proving the good functioning of the anastomosis
- The synthetic graft was embedded by the perihepatic tissue, at the level of the distal tranche, intestinal type epithelium being identified
- The use of the PTFE type vascular prostheses represents a feasible solution for iatrogenic bile duct injuries and these can be taken into consideration when other therapeutic solutions have failed.

Study 5. Experimental study of the viability of biliodigestive anastomoses by interposition of heterotopic allogene venous graft between the main bile duct and the duodenum, in the laboratory rat

Objective: the assessing of the viability of biliodigestive anastomoses by the interposition of a segment of inferior vena cava between the main bile duct and the duodenum.

Secondary objectives:

- the carrying out of the decompression of the biliary tree by the interposition of a venous graft between the main bile duct and the duodenum.
- the clinical and paraclinical evaluation of the subjects after the carrying out of the biliodigestive bypass
- the histopathological assessment of the degree of intrahepatic cholestasis, after the decompression of the biliary tree
- the histopathological assessment of the anastomotic complex formed by the main bile duct, the segment of venous graft and duodenum with the assessment of the type of epithelium encountered at the level of the anastomoses and of the venous graft

Material and method: we used 20 rats of the Wistar race, of male gender, with a weight of 200-270 grams. The rats were distributed into two subgroups, of 10 rats.

- The first subgroup: the subjects were the ligature of the main bile ducts was carried out and subsequently the biliodigestive anastomosis with the interposition of a venous graft between the main bile duct and the duodenum.
- The second subgroup: the rats from which we drew the segment of inferior vena cava representing the donor group from this study.

Clinical results: A case presented haemorrhage from de portal vein and death by haemorrhagic shock. The 9 remaining rats were clinically followed during the postoperative period. Feeding was recommenced 24 hours after surgery, being normal in the first two days, the response to the stimuli being also favourable. Starting from day 3 we found the alteration of the general state in all rats, with the modification of the appetite and the refusal of the feeding. Objectively we found an increase in volume of the abdomen and the presence of peritonitic signs. During surgery we found the presence of bilirachia at the level of the venous graft with generalized biliary peritonitis. At the time of the intervention, the anastomoses were patent, the source of the bilirachia being represented by the wall of the venous graft which was permeable for bile. The death was registered in the entire group and was due to septic shock.

Morphopathological results: The macroscopic aspect of the liver showed the presence of severe hepatic insufficiency with septic shock, the microscopic examination confirming the presence of generalized peritonitis. The histopathological examination of the liver showed the presence of sources of fibrinopurulent perihepatitis and the histological samples taken from the level of the venous graft proved the presence of

endothelial necrosis with transmural piogranulomatous inflammatory reaction and the necrosis of all the layers of the graft.

Conclusions

- From the technical point o view, the placing of the venous graft between the main bile duct and the duodenum is a feasible variant to go around a distal biliary obstacle
- The venous graft, used alone, was not a viable solution for the biliodigestive bypass
- The histological samples taken from the level of the venous graft proved the presence of endothelial necrosis with transmural piogranulomatous inflammatory reaction and the necrosis of all the layers of the graft
- Death was recorded for the entire group, secondary to biliary peritonitis

REFERINȚE

1. Couinaud C.,Le foie. Etudes Anatomiques et chirurgicales. Ed Masson et Cie.1957
2. Papilian V. Anatomia Omului. Splanhnologia Vol II Ediția a V-a. Editura Didactică și Pedagogică, București. 1979
3. Testut L, Latarjet A. Traite d'anatomie humaine. Tome Quatrieme. Ed.Octave Doin.1923
4. Rettori R. La section du sphincter d'Oddi (sphincterotomie oddiene, bases anatomiques et radiologiques. Techniques et resultats). These Med Paris.1956
5. Smadja C, Blumgart L.H, The biliary tract and the anatomy of biliary exposure. Surgery of the Liver and Biliary Tract, Vol I, Edinburgh: Churchill Livingstone, 1988:11-22
6. Berci G biliary ductal anatomy and anomalies. The role of intraoperative cholangiography during laparoscopic cholecistectomy. Surg Clin North Am 1992;72:1069-75
7. Benjamin I. S., Gupta S., „Biliary tract obstruction- pathophysiology” in L. H. Blumgart, Y. Fong Surgery of the Liver and Biliary Tract, third edition, W. B. Saunders 2000
8. Oliviu Pascu, Sindromul Icteric. în M. Grigorescu, O. Pascu, Tratat de Gastroenterologie vol II, Editura Tehnică, București 1997, pag 175-85
9. Mircea Grigorescu. Sindromul colestatic în M. Grigorescu, O. Pascu, Tratat de Gastroenterologie vol II, Editura Tehnică, București 1997 pag 185-203.
10. Radu Badea. Explorarea imagistică, în M. Grigorescu, O. Pascu, Tratat de Gastroenterologie vol II, Editura Tehnică, București 1997, pag 97-118
11. Liviu Vlad. Chirurgie Hepatică, Aspecte actuale. Ed. Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 1993
12. Pedersen OM, Nordgård K, Kvinnsland S. Value of sonography in obstructive jaundice. Limitations of bile duct caliber as an index of obstruction. Scand J Gastroenterol. 1987 Oct;22(8):975-81
13. Salem S, Vas W. Ultrasonography in evaluation of the jaundiced patient. J Can Assoc Radiol. 1981 Mar;32(1):30-4
14. Sanjay Saini, „Imaging of the Hepatobiliary Tract”, New England Journal of Medicine, vol 336, nr. 26, 1997
15. William R. Brugge, Jaques Van Dam. Pancreatic and Biliary Endoscopy. New England Journal of Medicine, vol 341, nr. 24, 1999
16. Sacks A, Peller PJ, Surasi DS, Chatburn L, Mercier G, Subramaniam RM. Value of PET/CT in the management of primary hepatobiliary tumors, part 2. AJR Am J Roentgenol. 2011 Aug;197(2):W260-5

17. Petrowsky H, Wildbrett P, Husarik DB, Hany TF, Tam S, Jochum W, Clavien PA. Impact of integrated positron emission tomography and computed tomography on staging and management of gallbladder cancer and cholangiocarcinoma. *J Hepatol.* 2006 Jul;45(1):43-50.
18. Huibregtse K. Complications of endoscopic sphincterotomy and their prevention. *N Engl J Med* 1996;335:961.
19. Bravo Vergel Yolanda, Chilcott J, Kaltenthaler Eva, Walters S, Blakeborough A, Thomas S. Economic evaluation of MR cholangiopancreatography compared to diagnostic ERCP for the Investigation of biliary tree obstruction. *International Journal of Surgery*, 2006, vol 4, 12-19
20. Georgopoulos SK, Schwartz LH, Jarnagin WR, Gerdes H, Breite I, Fong Y, Blumgart LH, Kurtz RC. Comparison of magnetic resonance and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in malignant pancreaticobiliary obstruction. *Arch Surg.* 1999 Sep;134(9):1002-7
21. Nina Phatak; Kochman ML. Biliary Endoscopy. *Curr Opin Gastroenterol* 2004, 20(3):281-287,
22. Hong SK, Jang JY, Kang MJ, Han IW, Kim SW. Comparison of clinical outcome and cost-effectiveness after various preoperative biliary drainage methods in periampullary cancer with obstructive jaundice. *J Korean Med Sci.* 2012 Apr;27(4):356-62. Epub 2012 Mar 21
23. Van der Gaag NA, Kloek JJ, De Castro SM, Busch OR, Van Gulik TM, Gouma DJ. Preoperative biliary drainage in patients with obstructive jaundice: history and current status. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 814-20.
24. Baijal SS, Dhiman RK, Gupta S, Sharma BC, Roy S, Agarwal DK, Choudhuri G, Saraswat VA, Naik SR. Percutaneous transhepatic biliary drainage in the management of obstructive jaundice. *Trop Gastroenterol* 1997;18: 167-71.
25. Gentili A, Gilkeson RC, Adler LP. Scintigraphic detection of bile leaks after laparoscopic cholecystectomy. *Clin Nucl Med.* 1993 Jan;18(1):1-6
26. Varghese JC, Farrell MA, Courtney G, Osborne H, Murray FE, Lee MJ. A prospective comparison of magnetic resonance cholangiopancreatography with endoscopic retrograde cholangiopancreatography in the evaluation of patients with suspected biliary tract disease. *Clin Radiol.* 1999 Aug;54(8):513-20
27. Hoeffel C, Azizi L, Lewin M, Laurent V, Aubé C, Arrivé L, Tubiana JM. Normal and pathologic features of the postoperative biliary tract at 3D MR cholangiopancreatography and MR imaging. *Radiographics.* 2006 Nov-Dec;26(6):1603-20
28. Kim SJ, Kim S, Kim CW, Lee TH, Lee JW, Lee SH, Choo KS, Kim GH. Evaluation of the biliary tract: the value of performing magnetic resonance cholangiopancreatography in conjunction with a 3-D spoiled gradient-echo gadolinium enhanced dynamic sequence. *Australas Radiol.* 2007 Aug;51(4):309-14
29. Ricardo L. Rossi. *The Surgical Clinics of North America. Biliary Tract Injuries Revisted.* vol 74, Nr 4, august 1994
30. Nuzzo G, Giuliante F, Giovannini I, Ardito F. Bile Duct Injury During Laparoscopic Cholecystectomy. *Arch surg*, 2005, October 140, 986-992
31. Flum DR, Cheadle A, Prella C, Dellinger EP, Chan L. Bile duct injury during cholecystectomy and survival in medicare beneficiaries. *JAMA.* 2003 Oct 22;290(16):2168-73
32. Seeliger H, Furst A, Zulke C, Jauch K. Surgical management of bile duct injuries following laparoscopic cholecystectomy: analysis and follow-up of 28 cases. *Langenbecks Arch Surg.* 2002 Nov;387(7-8):286-93
33. Cuschieri A, Dubois F, Mouiel J, Housset P, Becker H, Buess G et al. The European experience with laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1991;161:385-387.
34. The Southern Surgeons Club. A prospective analysis of 1518 laparoscopic cholecystectomies. *N Engl J Med* 1991;324:1073-1078

35. Ludwig K, Bernhardt J, Steffen H, Lorenz D. Contribution of intraoperative cholangiography to incidence and outcome of common bile duct injuries during laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc.* 2002 Jul;16(7):1098-104.
36. William C. Meyers, M.D., R. Scott Jones, M.D., *Liver and biliary surgery*, Lippincott, Philadelphia 1990:512
37. Lillemoe K.D, Martin S.A, Cameron J.L, Yeo C.J, Talamini M.A. Major Bile Duct Injuries During Laparoscopic Cholecystectomy. *Annals of Surgery* Vol 225, 1997, No 5, 459-471
38. McMahon A.J, Fullarton G, Baxter J.N, O'Dwer P.J. Bile duct injury and bile leakage in laparoscopic cholecystectomy. *British Journal Of Surgery.* 1995,82,307-313
39. Juvara I, Setlacec D, Rădulescu D, Gavrilescu S. *Chirurgia căilor biliare extrahepatice.*(tactică și tehnică). Vol II, Editura Medicală, București, 1989.
40. Bismuth H. Postoperative strictures of the bile ducts. In Blumgart LH (ed.) *The Biliary Tract V.* New York, NY: Churchill-Livingstone;1982:209-218.
41. Bergman JJ, van den Brink GR, Rauws EA, de Wit L, Obertop H, Huibregtse K, et al. Treatment of bile duct lesions after laparoscopic cholecystectomy. *Gut* 1996;38:141-147.
42. Neuhaus P, Schmidt SC, Hintze RE, Adler A, Veltzke W, Raakow R, et al. Classification and treatment of bile duct injuries after laparoscopic cholecystectomy. *Chirurg* 2000;71:166-173.
43. Csendes A, Navarrete C, Burdiles P, Yarmuch J. Treatment of common bile duct injuries during laparoscopic cholecystectomy: endoscopic and surgical management. *World J Surg* 2001;25:1346-1351.
44. Stewart L, Robinson TN, Lee CM, Liu K, Whang K, Way LW. Right hepatic artery injury associated with laparoscopic bile duct injury: incidence, mechanism, and consequences. *J Gastrointest Surg* 2004;8:523-531.
45. Strasberg S.M, Mertl M, Soper N.J. An analysis of the problem of the biliary injury during laparoscopic cholecistectomy. *J Am Coll Surg* 1995; 180: 101 – 105.
46. Soper N.J. Common bile duct injuries : cause, classification and avoidance. *Rom. J. Gastroenterol* 1996; 5 (suppl. 2) : 101-105.
47. Unger W, Glick G.L, Landeros M. Cystic duct leak after laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 1996, 10, 1189-1193
48. Gilsdorf Jr, Phillips M, McLeod MK, et al: Radionuclide evaluation of bile leakage and the use of subhepatic drains after cholecystectomy. *Am J Surg* 151:259-262, 1986
49. Lee CM, Stewart L, Way LW. Postcholecystectomy Abdominal Bile Collections. *Arch Surg.* 2000;135:538-544
50. Pitt HA, Cameron JL, Postier RG, Gadacz TR. Factors affecting mortality in biliary tract surgery. *Am J Surg* 1981;141-61
51. Lillemoe K.D, Melton G.B, Cameron J.L, Pitt H. A, Campbell K.A, Talamini M.A, Sauter P.A, Coleman J, Zeo C.J Postoperative bile duct strictures: Management and outcome in the 1990's *Ann of Surg* 2000 vol 232, No 3, 430-441
52. Perera MT, Silva MA, Hegab B, Muralidharan V, Bramhall SR, Mayer AD, Buckels JA, Mirza DF. Specialist early and immediate repair of post-laparoscopic cholecystectomy bile duct injuries is associated with an improved long-term outcome. *Ann Surg.* 2011 Mar;253(3):553-60.
53. Quintero GA, Patiño JF. Surgical management of benign strictures of the biliary tract. *World J Surg.* 2001 Oct;25(10):1245-50
54. Archer SB, Brown DW, Smith CD, Branum GD, Hunter JG. Bile duct injury during laparoscopic cholecystectomy: results of a national survey. *Ann Surg* 2001; 234(4):549-559
55. Yang FQ, Dai XW, Wang L, Yu Y. Iatrogenic extrahepatic bile duct injury in 182 patients: causes and management. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2002 May;1(2):265-9

56. Sawaya DE, Johnson LW, Sittig K, et al. Iatrogenic and noniatrogenic extrahepatic biliary tract injuries: a multi-institutional review. *Am Surg* 2001;67:473-477
57. Al Hajjar N. Leziunile iatrogene ale căilor biliare extrahepatice. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 2007.
58. Englesbe M, Dawes L. Resistant pathogens in biliary obstruction: importance of cultures to guide antibiotic therapy. *HPB* 2005; 7(2):144-148
59. Gilbert DN, Moellering RC, Eliopoulos GM, Sande MA. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy*. Ed. a 35-a. Antimicrobial Therapy Inc., 2005.
60. Davids PH, Rauws EA, Tytgat GN, Huibregtse K. Postoperative bile leakage: Endoscopic management. *Gut* 1992;33:1118
61. Kaffes AJ, Hourigan L, de Luca N. Impact of endoscopic intervention in 100 patients with suspected postcholecystectomy bile leak. *Gastrointest Endosc* 2005; 61:269
62. Bjorkman DJ, Carr Locke DL, Lichtenstein DR. Postsurgical bile leaks: endoscopic obliteration of the transpapillary pressure gradient is enough. *Am J Gastroenterol* 1995;90:2128
63. Pulitanò C, Parks R.W. Current management of iatrogenic bile duct injuries. *Surgery (Oxford)*. Hepatobiliary surgery II. Volume 28, Issue 5, May 2010, Pag 222–225
64. Riskin DJ, Longaker MT, Gertner M, Krummel TM. Innovation in Surgery A Historical Perspective *Ann Surg*. 2006 November; 244(5): 686–693
65. Grzegorz s. Mouret, Dubois, Perissat. The Laparoscopic Breakthrough in Europe (1987-1988) *JSIS* (1999)3: 163-167
66. Mihăileanu F, Zaharie F, Mocan L, Iancu C, Vlad L. Leziuni iatrogene ale căilor biliare secundare colecistectomiei laparoscopice sau clasice. *Clujul Medical* 2012 Vol. 85 (2): 233-237
67. Bezzi M, Silecchia G, Orsi F. Complications after laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endoscopy* 1995, 9,29-36
68. Murr MM, Gigot JF, Nagorney DM, Harmsen WS, Ilstrup DM, Farnell MB. Long-term results of biliary reconstruction after laparoscopic bile duct injuries. *Arch Surg*. 1999 Jun;134(6):604-9
69. Fernandez J.A, Robles B, Marin C et al. Laparoscopic iatrogeny of the hepatic hilum as an indication for liver transplantation. *Liver Transpl* 2004; 10: 147 – 152.
70. Aoki T, Tsuchida A, Saito H, Nagakawa Y, Kitamura K, Koianagi Y. Strategies for management of bile duct injury during laparoscopic cholecystectomy. *Diag. and Therap. Endosc*. 2001; 2: 55 – 61.
71. Newman C, Wilson R, Newman L. et al. 1525 laparoscopic cholecystectomies without biliary injury. A simple institution's experience. *Am Surg* 1995; 61: 226 – 228.
72. Ihasz M, Hung C.M, Regoli-Mezei J, Fazakas T, Bartofi J, Balint A, Zaborszky A, Posfai G. Complications of laparoscopic cholecystectomy in Hungary: a multicenter study of 13833 patients. *Eur J Surg* 1997; 163: 266 – 267
73. Bodea M, Iancu C, Bala O, Puia C, Al Hajjar N, Munteanu D, Pop F, Mihaileanu F, Vlad L. Leziunile caii biliare principale in colecistectomia laparoscopica. *Experienta unui centru universitar de chirurgie digestiva*. *Sibiul Medical* 2008; 1:151 -157
74. Barkun A.N, Rezieg M, Mehta S.N et al. Postcholecystectomy biliary leaks in the laparoscopic era: risk, factors, presentation and management. *Gastrointestinal Endoscopy* 1997; 45: 277 – 282.
75. Suter M, Meyer A. A 10-year experience with the use of laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis. *Surg Endosc* 2001; 15: 1187 – 1192
76. Flowers J.L, Bailey R.W, Scovill W.A, Zucker K.A. The Baltimore experience with laparoscopic management of acute cholecistitis. *Am J Surg* 1991; 161 : 388 – 392
77. Kang E.H, Middleton W.D, Balfe D.M, Soper N.J. Laparoscopic cholecystectomy: sonographic evaluation. *Radiology* 1991; 181: 439 – 442.
78. Brugge R, Rosenberg D.J, Alavi A. Diagnosis of postoperative bile leaks. *Am J of Gastro* 1994; 84: 2178 – 2183

79. Mergener K, Strobel J.C, Suhocki P et al. The role of ERCP in diagnosis and management of accessory bile duct leaks after cholecystectomy. *Gastrointestinal Endosc* 1999; 50: 527 – 531.
80. Barthel J, Schneider D. Advantages and nasobiliary tube drainage in the treatment of cystic duct stump leak complicating laparoscopic cholecystectomy. *Am J of Gastro* 1995; 90: 1322 – 1324
81. Davids P.H, Ringers J, Rauws E.A, deWit L.T, Huibregtse K, van der Heyde M.N, Tytgat G.N. Bile duct injury after laparoscopic cholecystectomy:the value of endoscopic retrograde cholangiography. *Gut* 1993; 1250 – 1251.
82. Woods M.S, Traverso L.W, Kozarek R.A, Donohue J.H, Fletcher D.R, Hunter J.G. Biliary complications of laparoscopic cholecystectomy are detected more frequently with routine intraoperative cholangiography. *Surg Endosc* 1995; 9: 1076 – 1080.
83. Lorimer J.W, Fairfull R.J. Intraoperative cholangiography is not essential to avoid duct injuries during laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1995; 169: 344 – 347.
84. Chaudhary A, Negi S.S, Puri S.K, Narang P. Comparison of magnetic resonance cholangiopancreatography and percutaneous transhepatic cholangiography in the evaluation of bile duct stricture after cholecystectomy. *Br. J. Surg* 2002; 89: 433 – 436.
85. Yeh T.S, Jan Y.Y, Tseng J.H, Hwang T.L, Jeng L.B, Chen M.F. Value of magnetic resonance cholangiography in demonstrating major bile duct injuries following laparoscopic cholecystectomy. *Br. J. Surg* 1999; 86: 181 – 184
86. Mihaileanu F, Zaharie F, Mocan L, Iancu C, Vlad L. Managementul leziunilor biliare iatrogene secundare colecistectomiei laparoscopice saudeschise. Experiența unui singur centru chirurgical. *Chirurgia (Bucur)*. 2012;107(4):454-460
87. Ferriman A. Laparoscopic surgery: two thirds of injuries initially missed. *British Medical Journal*. 2000; 321: 784.
88. Mercado M.A, Chan C, Orozca H, Tielve M, Hinojosa C.A. Acute bile duct injury: the need for a high repair. *Surg Endosc* 2003; 17: 1351 – 1355
89. Jabłońska B, Olakowski M, Lampe P, Górka Z, Bułdak L. Quality-of-life assessment in the treatment of iatrogenic bile duct injuries: hepaticojejunostomy versus end-to-end biliary reconstructions. *ANZ J Surg*. 2012 Aug 30. 1445-2197
90. Chaudhary A, Chandra A, Negi SS, Sachdev A. Reoperative surgery for postcholecystectomy bile duct injuries. *Dig Surg* 2002; 19: 22:27
91. Connor S, Garden OJ. Bile duct injury in the era of laparoscopic cholecystectomy. *Br J Surg* 2006; 93: 158:168
92. Francoeur JR, Wiseman K, Buczkowski AK, Chung SW, Scudamore CH Surgeons' anonymous response after bile duct injury during cholecystectomy *Am J Surg*. 2003 May;185(5):468-75
93. Hugh TB. New strategies to prevent laparoscopic bile duct injury-surgeons can learn from pilots. *Surgery* 2002; 132: 826-835
94. Nordin A, Halme L, Makisalo H, Isoniemi H, Hockerstedt K Management and Outcome of Major Bile Duct Injuries After Laparoscopic Cholecystectomy: From Therapeutic Endoscopy to Liver Transplantation *Liver Transplantation*, Vol 8, No 11 Nov 2002: 1036-1043
95. Mirza DF, Narsimhan KL, Ferraz Neto BH, Mayer AD,McMaster P, Buckels JAC. Bile duct injury following laparoscopic cholecystectomy: referral pattern and management. *Br J Surg* 1997;84:786-79
96. Törnqvist B, Zheng Z, Ye W, Waage A, Nilsson M. Long-term effects of iatrogenic bile duct injury during cholecystectomy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009 Sep;7(9):1013-18.
97. Li-Bo Li, Xiu-Jun Cai, Yi-Ping Mon et al. Factors influencing the results of treatment of bile duct injuries during laparoscopic cholecystectomy. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2005; 4: 113 – 116.
98. Sutherland F, Launois B, Stănescu M, Champion J.P, Spiliopoulos Y, Stasik C. A refined approach to the repair of postcholecystectomy bile duct strictures. *Arch Surg* 1999; 134: 299 – 302.

99. Tantia O, Jain M, Khanna S, Sen B. Iatrogenic biliary injury: 13,305 cholecystectomies experienced by a single surgical team over more than 13 years. *Surg Endosc.* 2008 Apr;22(4):1077-86.
100. Hepp J. Hepaticojejunostomy using the left biliary trunk for iatrogenic biliary lesions : the French connection. *World J Surg* 1985; 9: 506 – 510
101. Lannois B, Sutherland F.R, Harissis M. A new tehnique of Hepp – Couinand hepaticojejunostomy using the posterior approach to the hepatic hilum. *J Am Call Surg* 1999; 188: 59 – 62.
102. Frilling A, Li J, Weber F, Fruhauf N.R, Engel J, Beckebaum S et al. Major bile duct injuries after laparoscopic cholecystectomy: a tertiary center experience. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 679 – 685
103. Robinson TN, Stiegmann GV, Durham JD, et al. Management of major bile duct injury associated with laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc.* 2001;15:1381:1385
104. Innes JT, Ferrara JJ, Carey LC. Biliary reconstruction without transanastomotic stent. *Am Surg.* 1988;54:27:30
105. Sicklick JK, Camp MS, Lillemoe KD, Melton GB, Yeo CJ, Campbell KA, Talamini MA, Pitt HA, Coleman J, Sauter PA, Cameron JL. Surgical management of bile duct injuries sustained during laparoscopic cholecystectomy: perioperative results in 200 patients. *Annals of Surgery* 2005 May;241(5):786:92
106. Warren KW, Christophi C, Armendari ZR. The evolution and current perspectives of the treatment of benign bile duct strictures: a review. *Surg Gastroenterol.* 1982; 1:141
107. Santos EG, Neto GP. Learning curve and iatrogenic injuries in laparoscopic cholecystectomies. *Rev Col Bras Cir.* 2010 Jun;37(3):184-9.
108. Duca S, Acalovschi I, Bala O, Coman I, Ionescu M, Munteanu D, Puia C. *Chirurgia Laparoscopica editia a 2 a, Ed Paralela 45, 2001*
109. Bates T, Harrison M, Lowe D, Lawson C, Padley N. Longitudinal Study of gallstone prevalence at necropsy. *Gut* 1992; 33: 103 – 107
110. Savader S J, Lillemoe K D, Prescott C A, Winick A B, Venbrux A C, Lund G B, Mitchell S E, Cameron J L, and Osterman FA. Laparoscopic cholecystectomy-related bile duct injuries: a health and financial disaster. *Ann Surg.* 1997 March; 225(3): 268–27
111. Ahrendt AS, Pitt HA. Surgical therapy of iatrogenic lesions of biliary tract. *World J Surg* 2001; 25: 1360–1365
112. Adamsen S, Hansen OH, Funch-Jensen P, Schulze S, Stage JG, Wara P. Bile duct injury during laparoscopic cholecystectomy: a prospective nationwide series. *J Am Coll Surg* 1997;184:571-578
113. Lai EC, Lau WY. Mirizzi syndrome: history, present and future development. *ANZ J Surg* 2006;76:251-257
114. Reddick E.J, Olsen D.O. Laparoscopic cholecystectomy. A comparison with minilap cholecystectomy. *Surg Endosc* 1989; 3: 131 – 133.
115. Perissat J. Laparoscopic cholecystectomy: the European experience. *Am J Surg* 1993; 165: 444 – 449.
116. Vecchio R, MacFadyen BV, Latteri S. Laparoscopic cholecystectomy: an analysis on 114,005 cases of United States series. *Int Surg.* 1998 Jul-Sep;83(3):215-9
117. Andrén-Sandberg A, Johansson S, Bengmark S. Accidental lesions of the common bile duct at cholecystectomy. II. Results of treatment. *Ann Surg.* 1985 Apr;201(4):452-5.
118. Bismuth H., Lazorthes F. Les traumatismes operatoires de la voie biliare principale. *J.Chir.(Paris),* 1981, 118, 10:601-609.
119. Duca S. Sindromul biliarilor operati. Profilaxie, diagnostic, tratament. Editura Genesis, Cluj-Napoca, 1992.
120. Deziel DJ, Millikan KW, Economou SG, Doolas A, Ko ST, Airan MC. Complications of laparoscopic cholecystectomy: a national survey of 4,292 hospitals and an analysis of 77,604 cases. *Am J Surg.* 1993 Jan;165(1):9-14.

121. Riggs T, Foshag L., Vargish T., Zimmerman B. Biliary tract injuries following routine cholecystectomy. *Am Surg* 1986;52:312-314
122. Bowder I.W., Dowling J.B., Koontz K.K., Litwin M.S. Early Management of Operative Injuries of the Extrahepatic Biliary Tract. *Ann Surg*, June 1987; 649-666
123. Glenn F. Iatrogenic injuries to the biliary ductal system. *Surg Gynecol Obstet.* 1978 Mar;146(3):430-4
124. Miller R.E, Kimmelstiel F.M. Laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis. *Surg Endosc* 1993; 7: 296 – 299.
125. Pessaux P, Tuech JJ, Rouge C, Duplessis R, Cervi C, Armand J.P. Laparoscopic cholecystectomy in acute cholecystitis. A prospective comparative study in patients with acute vs chronic cholecystitis. *Surg Endosc* 2000; 14: 358 – 361.
126. Kolla S.B, Aggarwal S, Kumar A, Kumar R. Chumber S, Parshad R et al. Early vs delayed laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis : a prospective, randomised trial. *Surg Endosc* 2004; 18 : 1323 – 1327.
127. Wiesen S.M, Unger S.W, Barkin J.S, Edelman D.S, Scott J.S, Unger H.M. Laparoscopic cholecystectomy the procedure of choice for acute cholecystitis. *Am J Gastroenterol* 1992; 88 : 334 – 337
128. Mihaileanu F, Pinteala Alina, Iancu C, Vlad L. Evaluarea factorilor de risc și aerorilor tehnice implicate în apariția leziunilor biliare iatrogene secundare colecistectomiei laparoscopice. *AMT* 2012, vol II (2):37-40
129. Tsalis KG, Christofordis EC, Dimitriadis CA, et al. Management of bile duct injury during and after laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc.* 2003;17:31-37
130. Garber S.M, Korman J, Casgrove J.M, Cohen J.R. Early laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis. *Surg Endosc* 1997; 11: 347 – 350
131. Agarwal BB, Mahajan KC. Laparoscopic biliary tract injury prevention: zero tolerance, error free performance. *Surg Endosc.* 2010 Mar;24(3):728-9.
132. Martins PNA. The importance of experimental microsurgery for transplantation. *Acta Cir Bras* 2003; 18: 59-61
133. Hem, A., et al. Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig, ferret, and mink. *Laboratory Animals* 1998; 32(4):364-367.
134. Kassel, R. and Levitan, S. A jugular technique for the repeated bleeding of small animals. *Science*; 118:563-564, 1953.
135. Yardeni T, Eckhaus M, Douglas H.M, Huizing M, Hoogstraten-MS. Retro-orbital injections in mice. *Lab Anim (NY)*. 2011 May; 40(5): 155-160.
136. Sakaki, K. Hematological comparison of the mouse blood taken from the eye and the tail. *Exp. Anim.*; 10:14-19, 1961
137. Janet Hoff. Methods of Blood Collection in the Mouse. *Lab Animal*, 29(10): 47-53
138. Rodríguez G, Lorente L, Durán HJ, Aller MA, Arias J. A 70% hepatectomy in the rat using a microsurgical technique. *Int Surg.* 1999 Apr-Jun;84(2):135-8.
139. Lorente L, Aller MA, Rodriguez J, et al. Surgical anatomy of the liver in Wistar rats. *Surg Res Commun.* 1995; 17: 113-21.
140. Kogure K, Ishizaki M, Nemoto M, Kuwano H, Makuuchi M. A comparative study of the anatomy of the rat and human livers. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999; 6: 171-5
141. Azoulay D, Astarcioglu I, Astarcioglu H, Lemoine A, Majno P, Bismuth H. A new technique of one-stage total hepatectomy in the rat. *Surgery*, 1997: 121:219-222.
142. Lorente L, Rodriguez G, Alonso MS, Duran HJ, Aller MA, Arias J. Hepatic caudate process anatomy in Wistar rats. *Int J Surg Sci.* 1995;2:196-198
143. Casting D, Houssin D, Bismuth D. Anatomy of the liver and portal system of the rat. *Hepatic and Portal Surgery in the Rat.* Paris: Masson Co, 1980; 27-45

144. Aller MA, Lorente L, Prieto I, Moquillaza LM, Arias J. Hepatectomies in the rat: A look at the caudate process through microsurgery. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 695-699
145. Greene EC. Circulatory system. *Anatomy of the Rat*. New York: Hafner Publishing Co, 1963; 199-228
146. Leneman F, Burton S. The hepato-oesophageal artery of the rat. *Acta Anat* 1967; 68: 334-43
147. Innocenti P, Cotelleso R, Falcone A, Gargano E, Piattelli A. Anatomia chirurgica del sistema portale nel rato. *Boll. Soc. It. Biol. Sper* 1978; 54: 2421-5
148. Lorente L, Aller MA, Duran HJ, Cejalvo D, Lloris JM, Arias J. Extrahepatic biliary anatomy in Wistar rats. *Surg Res Comm* 1995; 17: 31-8.
149. Hebel R, Stromberg MW. Digestive system. *Anatomy of the Laboratory Rat*. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1976; 43-52
150. Mann FC, Brimhall SD, Forster JP. The extrahepatic biliary tract in common domestic and laboratory animals. *Anat Rec* 1920; 18: 47-66
151. Lambert R. *Surgery of the Digestive System in the Rat* translated by Brian Julien. Springfield III.1965
152. Yamashita T, Takahashi A, Honjin R. Spatial aspect of the mouse orbital venous sinus. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 1980 Mar;56(6):329-36
153. Burt AD. Cellular and molecular aspect of hepatic fibrosis. *J Pathol.* 1993;170:105-14.
154. Sánchez-Patán F, Anchuelo R, Corcuera MT, Casado I, Gómez-Aguado F, Aller MA, Cruz A, Alonso MJ, Arias J. Biliary fibrosis in microsurgical extrahepatic cholestasis in the rat. *Microsurgery* 2008; 28: 361-366
155. Aller MA, Arias JL, García-Domínguez J, Arias JI, Durán M, Arias J. Experimental obstructive cholestasis: the wound-like inflammatory liver response. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2008; 1: 6
156. Aller MA, Arias JL, Prieto I, Losada M, Arias J. Bile duct ligation: step-by-step to cholangiocyte inflammatory tumorigenesis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 651-661
157. Cai,S.R., Motoyama,K., Shen,K.J., Kennedy,S.C., Flye,M.W., and Ponder,K.P. Lovastatin decreases mortality and improves liver functions in fulminant hepatic failure from 90% partial hepatectomy in rats. *J Hepatol.* 2000 Jan;32(1):67-77
158. Gaub,J. and Iversen,J.Rat liver regeneration after 90% partial hepatectomy. *Hepatology* 1984;4:902-904
159. Thomas JP, Metropol HJ, Meyers RT. Teflon patch graft for reconstruction of the extrahepatic bile ducts. *Ann Surg.* 1964;160:967-70.
160. Hallberg D, Johnson G. Teflon use in choledochoplasty in the dog. *Acta Chir Scand.* 1960;119:120-2.
161. Moraca RJ, Lee FT, Ryan JA Jr, Traverso LW. Long-term biliary function after reconstruction of major bile duct injuries with hepaticoduodenostomy or hepaticojejunostomy. *Arch Surg* 2002; 137: 889-893.
162. Ling-hua Y, Liang X, Lin H, Wang Y, Zhu Y, Cai XJ. Sutureless choledochoduodenostomy with an intraluminal degradable stent in dog model. *Chinese Medical Journal* 2011;124(13):1999-2003
163. Crema E, Trentini EA, Llanos JC. Proposal of a new technique for bile duct reconstruction after iatrogenic injury: study in dogs and review of the literature. *Acta Cir Bras.* 2007 May-Jun;22(3):162-7
164. Gomez NA, Alvarez LR, Mite A, Andrade JP, Alvarez JR, Vargas PE. Repair of bile duct injuries with Gore-Tex vascular grafts: experimental study in dogs. *J Gastrointest Surg* 2002; 6:116-120
165. Christensen M, Laursen HB, Rokkjaer M, Jensen PF, Yasuda Y, Mortensen FV. Reconstruction of the common bile duct by a vascular prosthetic graft: an experimental study in pigs. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005;12:231-234.
166. Mutter D, Aprahamian M, Evrard S, Damgé C, Marescaux J. Biomaterials for primary closure of a choledochotomy in dogs. *Eur Surg Res.* 1996;28:32-8.
167. Mendelowitz DS, Beal JM. Expanded polytetrafluoroethylene in reconstruction of the canine biliary system. *Am J Surg.* 1982;143:221-4.

168. Sandblom P, Tabrizian M, Rigo M, Fluckiger A. Repair of common bile duct defects using the gallbladder or cystic duct as a pedicled graft. *Surg Gynecol Obstet.* 1975;140:425-32.
169. Bottger T, Mann B, Pickel B, Weber W, Sorger K, Junginger T. Pedicle graft of small bowel as a partial replacement of the extrahepatic bile duct. *Langenbecks Arch Chir.* 1991;376:77-84
170. Lexer GW, Zukriekel M, Meiser G, Kaindl H, Waclawiczek HW, Pimpl W, Boeckl O. Human pericardial patch in the treatment of iatrogenic common bile duct stenosis. An experimental study in pigs. *Wien Klin Wochenschr.* 1992;104:456-60
171. De-Sheng W, Ke-Feng D, Kai-Zong L, Zhi-Qing G, Zhen-Shun S, Zheng-Cai L. Hepatocellular apoptosis after hepatectomy in obstructive jaundice in rats. *World J Gastroenterol* 2003 December;9(12):2737-2741
172. Xia G, He J, Zhang Z, Leventhal J.R. Targeting acute allograft rejection by immunotherapy with ex vivo-expanded natural CD4+ CD25+ regulatory T cells. *Transplantation*, 2006, 82:1749.
173. Koyama I, Nadazdin O, Boskovic S, Ochiai T, Smith R.N, Sykes M, Sogawa H, Murakami T, Strom T.B, Colvin R.B, Sachs D.H, Benichou G, Cosimi A.B, Kawai T. Depletion of CD8 Memory T Cells for Induction of Tolerance of a Previously Transplanted Kidney Allograft. *Am. J. Transplant.* 2007; Epub ahead of print.
174. Kobayashi E, Kamada N, Toyama N, Delriviere L, Goto S, Enosawa S, Walker N.I, Green M.K, Miyata M. Successful methods of pancreas transplantation in the rat using a cuff technique. *Aust. N. Z. J. Surg.*, 1994, 64:491
175. Heistermann H. Reconstruction of bile duct lesions by an autologous vein graft and a bio-degradable endoluminal stent in an animal model: technique and clinical impact. *Zentralbl Chir.* 2003 Nov;128(11):952-7
176. Capitanich P, Herrera J, Iovaldi ML, Balbuena R, Casas G, Malizia P, Bun M, Mezzadri N. Bile duct replacement using an autologous femoral vein graft: an experimental study. Preliminary results. *J Gastrointest Surg.* 2005;9:369-73
177. Flati G, Flati D, Porowsaka B, Rossi G, Francavilla S, Santoro E, Carboni M. Circumferential choledochoplasties with autologous venous and arterial grafts. *Microsurgery.* 1993;14, 628-33
178. Heistermann H, Palmes D, Stratmann U, Hohlbach G, Hierlemann H, Langer M. A new technique for reconstruction of the common bile duct by an autologous vein graft and a biodegradable endoluminal stent. *J Invest Surg.* 2006. 19:57-60.
179. Palmes D, Wolters H, Spiegel HU, M Ller E, Minin E. Morphological changes during creation of a neo-bile duct using a vein and a biodegradable endoluminal stent. *J Invest Surg.* 2009 Nov-Dec;22(6):435-44
180. Regaly-Merci J, Ihasz M, Szeberin Z, Sandor J, Mate M. Biliary tract complications in laparoscopic cholecystectomy. A multicenter study of 148 biliary tract injuries in 26440 operations. *Surg Endosc* 1998; 12: 294 – 300.
181. Chapman W.C, Abecassis M, Jarnagin W, Mulvibill S., Strasberg S.M. Bile duct injuries: 12 years after introduction of laparoscopic cholecystectomy. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 412 – 416.
182. Al-Sebayel M.I. High bile duct injury following laparoscopic cholecystectomy. *Saudi Med J* 2003; 24: 971 – 973.
183. Suhocki P.V, Meyers W.C. Injury to aberrant bile ducts during cholecystectomy: a common cause of diagnostic error and treatment delay. *Am J of Roentgenology* 1999; 172: 955 – 959.
184. Way LW, Stewart L, Gantert W, Liu K, Lee CM, Whang K, Hunter JG. Causes and prevention of laparoscopic bile duct injuries: analysis of 252 cases from a human factors and cognitive psychology perspective. *Ann Surg.* 2003 Apr;237(4):460-9
185. Nealon W.H, Urrutia F. Long-term follow-up after bilioenteric anastomosis for benign bile duct stricture. *Ann. Surg* 1996; 223: 638 – 641.

186. Schmidt S.C, Langrehr J.M, Hintze R.E, Neuhaus P. Long term results and risk factors influencing outcome of major bile duct injuries following cholecystectomy. *Br J Surg* 2005; 92: 76 – 82
187. Hart R, Passi R, Hall W. Long-term outcome after repair of major bile duct injury created during laparoscopic cholecystectomy. *J Hepat Pancreat Biliary Surg.* 2000; 2: 325 – 332
188. Dageforde LA, Landman MP, Feurer ID, Poulouse B, Pinson CW, Moore DE. A cost-effectiveness analysis of early vs late reconstruction of iatrogenic bile duct injuries. *J Am Coll Surg.* 2012 Jun;214(6):919-27
189. Lee AY, Gregorius J, Kerlan RK Jr, Gordon RL, Fidelman N. Percutaneous transhepatic balloon dilation of biliary-enteric anastomotic strictures after surgical repair of iatrogenic bile duct injuries. *PLoS One.* 2012;7(10):1-5
190. Jacobson JH 2nd, Katsumura T Small vein reconstruction. *J Cardiovasc Surg* 1965,19: 157-159
191. Cobbett JR. Free digital transfer. Report of a case of transfer of a great toe to replace an amputated thumb. *J Bone Joint Surg Br.* 1969,51 (4): 677–679
192. Shapiro R I, Cerra F B. A model for reimplantation and transplantation of a complex organ: the rat hind limb. *J Surg Res* 1978, 24 (6): 501-506
193. Siemionow M, Kulahci Y. Experimental approaches to composite tissue allograft transplants. În: *Hand Transplantation*, (eds. M.Lanzetta, J.-M. Dubernard), Springer, Milano, 2007, 61-77
194. Topwik E, Kupiec-Weglinski JW, Schneider TM. Cyclosporine and experimental skin allografts. II. Indefinite survival and development of specific immunologic unresponsiveness. *Transplantation* 1985, 40:714–178
195. Topwik E, Kupiec-Weglinski JW, Tyler DS. Cyclosporine and experimental skin allografts: long-term survival in rats treated with low maintenance doses: *Plast Reconstr Surg* 1986, 77:268–276
196. Tam CM, Yaremchuk MJ, Randolph MA. Vascularized muscle allografts and the role of cyclosporine. *Plast Reconstr Surg* 1991,87:412–418
197. Doi K. Homotransplantation of limbs in rats. A preliminary report on an experimental study with non-specific immunosuppressive drugs. *Plast Reconstr Surg* 1979, 64:613–621
198. Salomkin J. Perioperative antimicrobial prophylaxis. În: *Mastery of Surgery vol I*, 101-109
199. Cohen J.M. Protocol preview and review. *Laboratory Animal Science*; 37 (special issue) 1987: 57-58.
200. Hart L.A. The animal subjects protocol process: Applying the three Rs. *Lab animal*; 1995; 24(5):40-43.
201. Orlands F.B. Case studies of ethical dilemmas. *Laboratory Animal Science* 1987; 37 (special issue):59-64
202. Recomandarea Comisiei din 18 iunie 2007 privind orientările pentru adăpostirea și îngrijirea animalelor folosite în scopuri experimentale și în alte scopuri științifice [notificată cu numărul C (2007) 2525]. Cercetare experimentală și de laborator. <http://vlex.com/vid/folosite-scopuri-experimentale-rul-37326106> id vLex: VLEX-37326106
203. Johannes A. G. Rhodin. Architecture of the Vessel Wall. *Handbook of Physiology, The Cardiovascular System, Vascular Smooth Muscle.* January 2011.
204. Ranga V. Anatomia Omului. Volumul II, Viscere, 2. Tubul digestiv abdominal si Glandele Anexe. Splina. Bucuresti, Institutul de Medicina si Farmacie, Catedra de Anatomie, 1980.
205. Onicescu D, Mischiu L. Marin A. *Curs de Histologie. Partea II – Cavitataea Bucala si Organe.* Institutul de Medicina si Farmacie Bucuresti, Facultatea de Stomatologie. Catedra de Histologie si Biologie Celulara. Bucuresti, 1979
206. Alpini G, Roberts S, Kuntz SM. Morphological, molecular and functional heterogeneity of cholangiocytes from normal rat liver. *Gastroenterology* 1996; 110: 1636–43

207. Aller MA, Natalia A, Prieto I, Agudo S, Gilsanz C, Lorente L, Arias JL, Arias J. A half century (1961-2011) of applying microsurgery to experimental liver research. *World J Hepatol.* 2012 July 27; 4(7): 199-208
208. Heinrich S, Georgiev P, Weber A, Vergopoulos A, Graf R, Clavien PA. Partial bile duct ligation in mice: a novel model of acute cholestasis. *Surgery.* 2011 Mar;149(3):445-51
209. Köckerling F, Grund S, Jacob DA. Typical intraoperative complications in laparoscopic surgery. *Chirurg.* 2012 Jul;83(7):633-41
210. Ren W, Shi D. Experimental study on repair of bile duct defects with expanded polytetrafluoroethylene. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2001 Sep;15(5):305-7
211. Aikawa M, Miyazawa M, Okamoto K, Toshimitsu Y, Torii T, Okada K, Akimoto N, Ohtani Y, Koyama I, Yoshito I. A novel treatment for bile duct injury with a tissue-engineered bioabsorbable polymer patch. *Surgery.* 2010;147:575-80.
212. Masayasu A, Mitsuo M, Kojun O, Yasuko T, Katsuya O, Naoe A, Yosuke U, Isamu K, Yoshito I. An Extrahepatic Bile Duct Grafting Using a Bioabsorbable Polymer Tube. *J Gastrointest Surg.* March 2012, Volume 16, Issue 3, pp 529-534
213. Miyazawa M, Torii T, Toshimitsu Y, Okada K, Koyama I, Ikada Y. A tissue-engineered artificial bile duct grown to resemble the native bile duct. *Am J Transplant* 2005; 5:1541-1547.
214. Nakashima S, Nakamura T, Miyagawa K, Yoshikawa T, Kin S, Kuriu Y. In situ tissue engineering of the bile duct using polypropylene mesh-collagen tubes. *Int J Artif Organs* 2007; 30:75-85.
215. Nau P, Liu J, Ellison E C, Hazey J W, Henn M, Muscarella P, Narula VK, Melvin WS. Novel reconstruction of the extrahepatic biliary tree with a biosynthetic absorbable graft. *HPB (Oxford).* 2011 August; 13(8): 573-578
216. Zografakis JG, Jones BT, Ravichandran P, Evancho-Chapman MM, Schmidt SP, Arends D, Funk KM, Gingras P. Endoluminal reconstruction of the canine common biliary duct. *Curr Surg.* 2003 Jul-Aug;60(4):437