

LUIZ SERGIO SANTOS

**EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO EM RATOS SUBMETIDOS A
NEFRECTOMIA UNILATERAL: ANÁLISE MORFOLÓGICA E
FUNCIONAL DO RIM REMANESCENTE**

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau acadêmico de Doutor.
Programa de Pós-Graduação em Clínica
Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Renato Tambara Filho

Co-Orientador: Dra. Teresa Maria S. Figueiredo

Coordenador: Prof. Dr. Jorge E. F. Matias

CURITIBA

2004

TERMO DE APROVAÇÃO

LUIZ SERGIO SANTOS

EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO EM RATOS SUBMETIDOS A NEFRECTOMIA UNILATERAL: ANÁLISE MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DO RIM REMANESCENTE

**Tese aprovada como requisito parcial para
obtenção do grau acadêmico de Doutor.
Programa de Pós-Graduação em Clínica
Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Paraná.**

Comissão Examinadora:

**Professor Dr. Anuar Ibrahim Mitre - Membro
Universidade Federal de São Paulo.**

**Professor Dr. Sergio Ossamu Ioshii - Membro
Universidade Federal do Paraná.**

**Professor Dr. Jurandir Marcondes Filho – Membro
Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná**

**Professor Dr. Luiz Carlos Von Bathen – Membro
Universidade Federal do Paraná**

**Professor Dr. Luiz Carlos de Almeida Rocha – Presidente
Universidade Federal do Paraná**

Curitiba, 18 de dezembro de 2004.

À minha esposa Maria Alice, pelo carinho e superação nos momentos difíceis ao longo desse trabalho, e ao meu filho Luiz Felipe, que soube entender mais uma vez a minha ausência.

Aos meus pais, Alziro e Marisa, que embora não mais entre nós, a certeza de estarem olhando por mim nesse momento.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Renato Tambara Filho, amigo e orientador, meu reconhecimento pela inestimável contribuição e desprendimento em transmitir seus ensinamentos.

À Dr.^a Teresa Maria da Silva Figueiredo, co-orientadora, pelas horas de estudo anatomopatológico dispensadas e valiosa orientação.

Ao Professor Dr. Jorge Eduardo Fouto Mathias, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da UFPR, pela oportunidade do aprendizado e evolução em minha carreira universitária.

Ao Dr. Fernando Hintz Greca, a minha gratidão pelo apoio na realização do estudo experimental no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia da PUC/PR.

Ao Dr. Indalécio Mainardes Sutil, médico veterinário da PUC/PR, cujo conhecimento científico e princípios éticos no tratamento aos animais o fazem um exemplo a ser seguido.

À Juliana Elizabeth Jung, residente do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UFPR, pela dedicação e colaboração em muitas etapas desta pesquisa.

Ao acadêmico do curso de Medicina da PUC/PR, Guilherme Cravo, cujo auxílio nos vários procedimentos cirúrgicos realizados tornaram possível a realização deste trabalho.

A todos os funcionários do Biotério e do Laboratório de Cirurgia Experimental da PUC/PR, pela sempre pronta colaboração no manuseio e cuidado dispensados aos animais de experimentação.

À bibliotecária Áurea Maria Costin, do Hospital de Clínicas da UFPR, pela ajuda inestimável que muito contribuiu para a viabilização desta pesquisa.

A Maristela S.S. Lopes de Oliveira, bibliotecária da PUC/PR, pela colaboração, dedicação e competência profissional.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram da elaboração deste trabalho contribuindo para sua conclusão.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE GRÁFICOS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
3 MATERIAL E MÉTODO	10
3.1 MODELO ANIMAL	10
3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	11
3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	11
3.4 DESENHO DO EXPERIMENTO	11
3.5 GRUPOS E SUBGRUPOS	11
3.6 EQUIPAMENTO E INSTRUMENTAL	12
3.7 TÉCNICA OPERATÓRIA	13
3.7.1 Determinação do Peso dos Animais	13
3.7.2 Ato Anestésico	13
3.7.3 Preparo e Posição dos Animais	13
3.7.4 Descrição do Procedimento	14
3.8 OBSERVAÇÃO PÓS-OPERATÓRIA DOS ANIMAIS E EUTANÁSIA	16
3.9 ANÁLISE FUNCIONAL	17
3.10 ANÁLISE MORFOLÓGICA	17
3.10.1 Exame Microscópico	18
3.11 METODOLOGIA ESTATÍSTICA	20
4 RESULTADOS	21
4.1 PESO DOS ANIMAIS	21
4.2 PERDAS DE ANIMAIS.....	21
4.3 ANÁLISE FUNCIONAL	21
4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA	25
5 DISCUSSÃO	32
5.1 DESENHO EXPERIMENTAL	33
5.1.1 Modelo Animal	33
5.1.2 Instalação do Pneumoperitônio	33
5.1.3 Pressão do Pneumoperitônio	34

5.1.4 Tempo de Exposição ao Pneumoperitônio	35
5.1.5 Período de Observação	35
5.2 ANÁLISE FUNCIONAL	36
5.2.1 Creatinina Sérica	36
5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA	39
5.3.1 Hipertrofia Glomerular	40
5.3.2 Número de Células Mesangiais	43
5.3.3 Esclerose Glomerular	45
6 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS	48
APÊNDICES	57
ANEXOS	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	INSUFLADOR AUTOMÁTICO DE CO ₂	13
FIGURA 2 -	PUNÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL	14
FIGURA 3 -	PNEUMOPERITÔNIO INSTALADO	15
FIGURA 4 -	NEFRECTOMIA ESQUERDA	16
FIGURA 5 A -	MEDIDA DO DIÂMETRO GLOMERULAR	19
FIGURA 5 B -	MEDIDA DA ÁREA GLOMERULAR	19
FIGURA 5 C -	CONTAGEM DO NÚMERO DE CÉLULAS MESANGIAIS	20
FIGURA 6 -	GLOMÉRULO DE RIM REMANESCENTE COM MORFOLOGIA NORMAL.	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS EM ESTUDO (mg/dl)	22
TABELA 2 -	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO NOS GRUPOS EM ESTUDO – MPP1	26
TABELA 3 -	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO NOS GRUPOS EM ESTUDO – ME	27
TABELA 4 -	CREATININA SÉRICA (mg/dl) / PESO (g).....	58
TABELA 5 -	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO PESO DOS RATOS NOS GRUPOS EM ESTUDO	59
TABELA 6 -	ANÁLISE COMPARATIVA DA CREATININA SÉRICA ENTRE GRUPOS DE ESTUDO	59
TABELA 7 -	ANÁLISE COMPARATIVA DA CREATININA SÉRICA INTRAGRUPOS	59
TABELA 8 -	ANÁLISE COMPARATIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO ENTRE GRUPOS	60
TABELA 9 -	ANÁLISE COMPARATIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO INTRAGRUPOS - MPP1 X ME	60
TABELA 10 -	ESTUDO MORFOMÉTRICO - AVALIAÇÃO NO MPP1 (RIM ESQUERDO) ..	61
TABELA 11 -	ESTUDO MORFOMÉTRICO – AVALIAÇÃO NO ME (RIM REMANESCENTE)	63

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -	CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO – MPP1	23
GRÁFICO 2 -	CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO – MPP2	23
GRÁFICO 3 -	CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO – ME	23
GRÁFICO 4 -	CREATININA SÉRICA – MPP1 X MPP2 (4 SEMANAS)	24
GRÁFICO 5 -	CREATININA SÉRICA – MPP1 X ME (8 SEMANAS)	24
GRÁFICO 6 -	EVOLUÇÃO DA CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO	25
GRÁFICO 7 -	DIÂMETRO GLOMERULAR MÉDIO ENTRE GRUPOS DE ESTUDO – MPP1.	27
GRÁFICO 8 -	VOLUME GLOMERULAR MÉDIO ENTRE GRUPOS DE ESTUDO – MPP1....	28
GRÁFICO 9 -	MEDIDAS DA ÁREA GLOMERULAR MÉDIA ENTRE GRUPOS DE ESTUDO – MPP1	28
GRÁFICO 10 -	NÚMERO MÉDIO DE CÉLULAS MESANGIAIS, ENTRE GRUPOS DE ESTUDO – ME (RIM REMANESCENTE)	29
GRÁFICO 11 -	DIÂMETRO GLOMERULAR MÉDIO - INTRAGRUPOS	29
GRÁFICO 12 -	VOLUME GLOMERULAR MÉDIO - INTRAGRUPOS	30
GRÁFICO 13 -	ÁREA GLOMERULAR MÉDIA - INTRAGRUPOS	30
GRÁFICO 14 -	NÚMERO MÉDIO DE CÉLULAS MESANGIAIS - INTRAGRUPOS	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADH	Hormônio antidiurético
CCBS	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
H&E	Hematoxilina e eosina
ME	Momento da eutanásia
MPP1	Momento do primeiro pneumoperitônio
MPP2	Momento do segundo pneumoperitônio
PAS	Ácido periódico Schiff
PIA	Pressão intra-abdominal
PIC	Pressão intracraniana

RESUMO

O aumento da pressão intra-abdominal (PIA) está associado à redução do débito urinário, e pode levar a alterações na histologia e função renal. Partindo dessa premissa, realizou-se este estudo experimental com o objetivo principal de analisar os efeitos morfológicos e funcionais de repetidos pneumoperitônios sobre o rim remanescente de ratos submetidos a nefrectomia unilateral. Para isso foram utilizados 48 ratos da linhagem Wistar, adultos, machos, pesando entre 240 e 350 g, distribuídos em três grupos. Os ratos do Grupo 1 foram subdivididos em dois subgrupos, Controle 1A e Controle 1B. Os Grupos 2 e 3 e os subgrupos contaram com 12 animais cada. Todos os animais foram anestesiados e submetidos à punção abdominal com agulha. Os ratos dos Grupos 2 e 3 foram submetidos à insuflação abdominal com CO₂ por 2 e 4 horas respectivamente, com uma PIA constante de 15 mmHg. Os animais do Controle 1A e 1B foram mantidos puncionados por 2 e 4 horas respectivamente, porém sem insuflação de gás. Ao final desse período foi realizada nefrectomia esquerda em todos os animais. Quatro semanas após, novo pneumoperitônio foi instalado com o mesmo tempo de duração, conforme os grupos. Após 8 semanas os animais foram submetidos a eutanásia para remoção do rim remanescente. Foram coletadas amostras de sangue durante todo o experimento para análise da função renal por meio da creatinina sérica. O rim remanescente foi submetido a análise microscópica para avaliação do grau de hipertrofia glomerular, contagem do número de células mesangiais e observação da presença ou não de esclerose glomerular. Os diversos grupos foram submetidos a observação temporal e a análise estatística por meio de estudo comparativo longitudinal e transversal. A avaliação da função renal residual por meio da creatinina sérica não evidenciou alteração de significância clínica em ratos submetidos a 2 e 4 horas de pneumoperitônio após um período de 8 semanas. A análise morfológica do rim remanescente não revelou alteração histológica sugestiva de dano renal nos grupos em estudo. Pode-se concluir que a função e a morfologia renal de ratos submetidos a nefrectomia unilateral não são significativamente influenciadas por prolongados e sucessivos pneumoperitônios, conforme demonstram os achados bioquímicos e histológicos neste estudo.

Palavras-chave: Pneumoperitônio; Laparoscopia; Nefrectomia; Ratos Wistar.

ABSTRACT

The increase of intra-abdominal pressure (IAP) is associated with the reduction of the urinary output that could lead to histologic and renal function alterations. By this premise, this experimental study was realized with the major objective to analyze the morphologic and functional effects of the pneumoperitoneum on the remnant kidney in rats submitted to a unilateral nephrectomy. To do this, 48 adults, male, Wistar rats were used, their weight average was about 240 and 350 g., distributed in three groups. The rats of the Group 1 were subdivided in other two subgroups: Control Group 1A and Control Group 1B. The Groups 2 and 3 and their subgroups had 12 rats each one. All the animals were anesthetized and submitted to an abdominal puncture. The animals of the Groups 2 and 3 were submitted to an abdominal insufflation with CO₂, during 2 and 4 hours respectively, with a constant IAP of 15 mmHg. The rats of the Control Group 1A and 1B were maintained punctured during 2 and 4 hours respectively, however, without insufflation. In the end of this period, a left nephrectomy was done in all animals. After 4 weeks, a new pneumoperitoneum was installed with the same duration, according to the groups. After 8 weeks, the animals were submitted to euthanasia to remove the remnant kidney. Samples of blood were collected during the whole experiment to analyses the renal function by using serum creatinine. The remnant kidney was analyzed microscopically to evaluate its level of glomerular hypertrophy, the number of mesangial cells, and to observe the presence of glomerular sclerosis. All the groups were submitted to observation and statistic analyze by a longitudinal and transversal comparative study. The evaluation of residual renal function by serum creatinine, didn't demonstrate a significant clinical alteration in rats submitted to pneumoperitoneum during 2 and 4 hours after a period of 8 weeks. The morphologic analyze of the remnant kidney didn't demonstrate histological renal injury in the groups. We concluded, that the function and renal morphology of the rats submitted to an unilateral nephrectomy were not significantly influenced by prolonged and successively pneumoperitoneum, according to the biochemical and histological founds in this study.

Key-Words: Pneumoperitoneum; Laparoscopy; Nephrectomy; Wistar rats.

1 INTRODUÇÃO

A adição da laparoscopia ao arsenal das cirurgias urológicas trouxe grandes benefícios tanto para os cirurgiões como para pacientes envolvidos com essa técnica, reduzindo significativamente o tempo cirúrgico e a morbidade, facilitando a recuperação pós-operatória (HEDICAN, 2000). No entanto acrescentou também algumas alterações fisiológicas intimamente associadas à insuflação de gases na cavidade abdominal, freqüentemente por períodos prolongados (DUNN et al., 2000). O entendimento detalhado dos efeitos do pneumoperitônio sobre os diversos órgãos e sistemas é especialmente importante devido à crescente complexidade e duração dos procedimentos laparoscópicos. Esse conhecimento permitirá ao cirurgião minimizar os riscos e maximizar as vantagens da laparoscopia para os pacientes.

Diversas pesquisas em animais e estudos clínicos têm avaliado os vários efeitos fisiológicos da insuflação de gás – usualmente gás carbônico (CO₂) – no abdome e a conseqüente elevação da pressão intra-abdominal (PIA), a qual pode levar a alteração no equilíbrio ácido-básico e na fisiologia cardiovascular, pulmonar e renal (SCHÄFER et al., 2001a). No rim, um prolongado aumento da PIA está associado à redução do débito urinário, que pode chegar até a anúria, tanto em humanos como em animais (BEN-DAVID et al., 1999; RICHARDS et al., 1983). Várias são as teorias que se propõem explicar esse fato.

A redução do débito cardíaco e a compressão da veia e do parênquima renal, além de efeitos hormonais sistêmicos causados pelo pneumoperitônio, apresentam em comum a diminuição do fluxo plasmático efetivo renal, que resulta em redução da taxa de filtração glomerular e conseqüentemente do débito urinário (GÜLER et al., 1998; O'MALLEY, CUNNINGHAM, 2001). Essas alterações são em geral transitórias, pois desaparecem pouco tempo depois de interrompido o pneumoperitônio. Nenhuma evidência de alteração histológica resultante da

isquemia renal pelo pneumoperitônio, bem como da função renal, foi observada em médio e longo prazo em diversos estudos em animais (MOREIRA et al., 2002; ARE et al., 2002).

Recentemente a nefrectomia laparoscópica em doadores vivos tem sido empregada como alternativa minimamente invasiva ao tradicional acesso cirúrgico aberto via lombotomia, por apresentar menor morbidade ao doador, reduzindo-lhe o tempo de convalescença e o período de hospitalização, além de diminuir-lhe a dor no pós-operatório (RUIZ-DEYA et al., 2001). Embora teoricamente essa técnica implique aumento da PIA com conseqüentes alterações isquêmicas sobre o rim a ser transplantado, o que levaria a prejuízo na função renal do receptor, pesquisas recentes demonstraram que nenhum dano histológico ou na função desses rins foi observado com tal procedimento, cujos resultados são comparáveis ao método convencional por via aberta (HAZEBROEK et al., 2002a; HAZEBROEK, et al., 2002b). No entanto, os reais efeitos do pneumoperitônio sobre o rim remanescente do doador ainda carecem de estudos em longo prazo.

Durante mais de cem anos a nefrectomia unilateral tornou-se um procedimento aceito para o tratamento de desordens malignas e benignas do rim em adultos e crianças. Na prática, pacientes têm experimentado poucos efeitos adversos; o rim solitário parece adequar-se às demandas metabólicas do organismo e a sobrevida parece não ser afetada (MORGAN; ZINCKE, 1990). Porém, com o advento da cirurgia laparoscópica, estudos prospectivos serão necessários para avaliação dos efeitos do aumento da PIA nos indivíduos portadores de rim único ou com reduzida função renal.

A laparoscopia têm sido empregada cada vez mais nas diversas áreas da medicina para realização de cirurgias minimamente invasivas. A possibilidade de um mesmo indivíduo sofrer uma ou mais intervenções por via laparoscópica existe e deve ser considerada. Doadores renais atualmente fazem parte desta população que, tendo sido submetida a um primeiro pneumoperitônio para remoção de um rim,

pode, no futuro, por inúmeras razões, necessitar de novo procedimento laparoscópico. A preocupação em tais situações recai sobre o rim remanescente, que, em virtude de já ter sido submetido aos efeitos do aumento da PIA, seria novamente exposto e sujeito a eventual dano.

Com o intuito de aprofundar o conhecimento de eventuais complicações e perturbações fisiológicas impostas pelo pneumoperitônio sobre o rim remanescente, procurou-se avaliar tais alterações mediante observação experimental em animais com reduzida massa renal. A ausência de relato na literatura médica sobre os efeitos cumulativos do pneumoperitônio no rim remanescente reflete a necessidade de investigação nessa área, daí porque é tema atual e objeto de pesquisa em diversos centros.

Este estudo, idealizado para elucidar os efeitos de repetidos pneumoperitônios sobre o rim remanescente em ratos submetidos a nefrectomia unilateral, tem os seguintes objetivos específicos:

- 1) analisar a função renal residual por meio da creatinina sérica;
- 2) investigar, por meio de estudo histológico, as características morfológicas do rim remanescente.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A pedra fundamental da atual laparoscopia foi lançada na Faculdade de Medicina de Viena em 1805, quando o médico alemão Bozzini apresentou o primeiro endoscópio para inspecionar a uretra humana sob visão direta (MITRE e ARAP, 2000). Contudo, os passos iniciais em direção à cirurgia laparoscópica foram dados somente quase um século mais tarde por um cirurgião de Dresden, Alemanha. Georg Kelling em 1901 utilizou um cistoscópio – proposto inicialmente por Nitze (1877) –, o qual foi introduzido através de um trocarte para examinar a cavidade abdominal de um cão. Durante a fase inicial desse procedimento, Kelling, utilizando uma agulha, insuflou a cavidade peritoneal com ar ambiente filtrado e observou as alterações dos órgãos diante do aumento de pressão abdominal (IRGAU et al., 1997).

Em 1910, Jacobaeus, um interno da Universidade de Estocolmo, aplicou a técnica proposta por Kelling para fins diagnósticos em humanos e a denominou de *toraco-laparoscopia*. O autor utilizou um trocarte com uma abertura para insuflação de ar como único portal de entrada, permitindo assim a produção de pneumoperitônio e simultânea endoscopia da cavidade abdominal (STELLATO, 1992).

Paralelamente ao desenvolvimento de recursos de iluminação e instrumentos ópticos, novas invenções e aperfeiçoamentos nas técnicas e instrumentos de insuflação ocorreram. Após Kelling relatar o uso de ar filtrado para insuflar a cavidade abdominal, Zollikofer, da Suíça, introduziu em 1924 o uso do dióxido de carbono (CO₂) para produzir pneumoperitônio (GILL et al., 2003).

A moderna cirurgia laparoscópica passou, portanto, por longo processo de evolução, desde os pioneiros europeus no início do século passado até os dias atuais. Mas foi a partir de 1960, quando o engenheiro e médico alemão Kurt Semm desenvolveu o insuflador automático de gás carbônico, que a laparoscopia teve seu

grande avanço e passou a representar um marco na história da cirurgia laparoscópica intervencionista. Semm também desenvolveu um grande número de instrumentos laparoscópicos que permitiram a laparoscopia terapêutica, propiciando assim as bases para a “cirurgia endoscópica abdominal” (GUNNING, 1974).

Até o início da década de 80 a laparoscopia apresentava limitadas aplicações em urologia e somente a partir de 1990 teve grande impulso no seu desenvolvimento. Após extensos testes em laboratórios, CLAYMAN et al. (1991) realizaram a primeira nefrectomia laparoscópica no tratamento de um tumor renal.

Apenas quatro anos mais tarde, RATNER et al. (1995) efetuaram a primeira nefrectomia laparoscópica em doador vivo para fins de transplante. Nestes últimos anos esta técnica foi difundida por todo o mundo, tornando-se, em muitos centros, o procedimento padrão em transplantes renais.

Inicialmente os procedimentos laparoscópicos eram principalmente realizados com propósitos diagnósticos e em cirurgias ablativas. Como método de cirurgia minimamente invasiva, essa forma de tratamento tem sido aplicada cada vez mais em procedimentos de maior complexidade, em pacientes debilitados com contra-indicação para cirurgia convencional ou mesmo em aqueles com reduzida função renal (CASTILHO, 1999). Estas particularidades trouxeram importante desenvolvimento às pesquisas experimentais sobre os vários efeitos fisiológicos sistêmicos da insuflação de gás na cavidade abdominal e a conseqüente elevação da pressão intra-abdominal (NEUDECKER et al., 2001).

A associação entre o quadro de oligúria e hipertensão intra-abdominal foi primeiramente descrita por Wendt em 1913, quando, ao estudar cães submetidos a aumento da pressão abdominal, observou que pressão de 30 mmHg levava os animais à anúria (CARRY et al., 1994).

No início da era laparoscópica, THORINGTON e SCHMIDT (1923), observando os efeitos do aumento da PIA, reverteram um estado de oligúria após

realizar paracentese de uma ascite tensa e a reproduziram experimentalmente em cães mediante a instilação de líquidos na cavidade peritoneal.

Mais tarde, em 1947, BRADLEY & BRADLEY, estudando os efeitos do aumento da PIA na função renal em humanos, confirmaram sua íntima relação, demonstrando que a lesão renal é reversível com a redução da pressão intra-abdominal a valores normais.

A fisiopatologia que envolve o pneumoperitônio e seus efeitos é um evento complexo, e sua etiologia ainda permanece incerta (DOLGOR et al., 1998). Um prolongado período de aumento da PIA está associado com a redução do débito urinário, que pode chegar até a anúria em animais e em humanos (BEN-DAVID et al., 1999). O baixo volume urinário continua a ser o efeito intra-operatório mais marcante do pneumoperitônio e é pressão-dependente. Em humanos, o uso de pneumoperitônio com baixa pressão (4 mmHg) não leva a alteração significativa no débito urinário, no fluxo plasmático renal ou na taxa de filtração glomerular, ao contrário do observado com pressões abdominais superiores a 12 mmHg (JUNGHANS et al., 1997; LINDBERG et al., 2003). Embora essa transitória disfunção renal tenha sido bem documentada, vários mecanismos parecem estar envolvidos em tais alterações, os quais incluem redução do débito cardíaco, compressão da veia renal, obstrução ureteral, compressão do parênquima renal e efeitos hormonais sistêmicos (McDOUGALL et al., 1996; HUNTER, 1995).

Forte correlação entre o aumento da PIA e o fluxo sanguíneo cortical foi encontrada nos estudos de CHIU et al. (1994) e SCHÄFER et al. (2001b), indicando que o fluxo renal declina rápida e intensamente quanto maior for a pressão abdominal empregada.

MICALI et al. (1999) examinaram as alterações na concentração da enzima N-acetil-B-Dglucosaminidase, presente nas células tubulares do rim e liberada na urina em resposta a injúria tubular, e nenhuma diferença constataram no grupo submetido ao pneumoperitônio quando comparado ao grupo controle. Concluíram os

autores que nenhuma lesão dos túbulos renais ocorreu, o que enfatiza portanto o baixo risco de dano renal devido ao pneumoperitônio usado em cirurgia laparoscópica.

Ao analisarem os efeitos agudos do pneumoperitônio em ratos submetidos a pressões de 4 e 6 mmHg, FAGUNDES et al. (2000) só observaram significativas alterações dos níveis séricos de creatinina quando utilizaram PIA de 6 mmHg.

CLEVA et al. (2001) relataram quatro casos de falência renal aguda decorrente de síndrome compartimental, que foi prontamente revertida por meio de descompressão abdominal, confirmando dessa forma os efeitos do aumento da pressão intra-abdominal sobre o rim e o caráter reversível e transitório dessas alterações.

HAZEBROEK et al. (2002b) avaliaram o impacto do aumento da PIA sobre a função renal em pacientes submetidos a nefrectomia laparoscópica para transplante e concluíram que os enxertos oriundos de procedimentos laparoscópicos apresentaram função renal inicial menor quando comparados aos enxertos obtidos por via aberta convencional. No entanto não observaram diferença na função renal em longo prazo.

Os efeitos indiretos do aumento da PIA foram avaliados por ROSIN et al. (2002). Utilizando pressão de 5, 15 e 25 mmHg na cavidade peritoneal de porcos, observaram que em baixa pressão (5 mmHg) nenhuma alteração fisiológica foi evidenciada, porém em pressões mais elevadas (15 e 25 mmHg) ocorreu significativo aumento da pressão intracraniana (PIC) e redução do fluxo plasmático renal.

Relatos da literatura suportam a relação entre a elevação da PIA e o aumento da PIC (DUNN et al., 2000; DUALÉ et al., 2001). Os efeitos indiretos do aumento da PIC podem ser responsáveis pela grande maioria das manifestações que ocorrem na vigência do pneumoperitônio. Um possível mecanismo pode ser devido à liberação de vários mediadores hormonais em resposta à elevação da PIA. Esse

“modelo hormonal”, contrário ao simples “modelo mecânico”, pode explicar melhor os fenômenos observados em resposta à hipertensão abdominal (BRASESCO et al., 2002).

Diversos estudos clínicos e experimentais demonstraram aumento das concentrações plasmáticas de vasopressina (LE ROITH et al., 1982), renina (BANNENBERG et al., 1997), aldosterona (CHIU et al., 1996) e catecolaminas (LINDSTRÖM et al., 2003) durante o pneumoperitônio. O resultado dessa resposta neuro-humoral é a vasoconstrição renal, que leva à redução do fluxo sanguíneo renal e conseqüentemente ao ritmo de filtração glomerular, resultando em oligúria ou, por vezes, em anúria (PÉREZ et al., 2002; ALMEIDA et al., 2004).

HAZEBROEK et al. (2002a) estudaram a associação do aumento do nível plasmático do hormônio antidiurético (ADH) com o aumento da PIA em doadores renais submetidos a nefrectomia laparoscópica e concluíram que a elevação do ADH – que, além da ação vasoconstritora, teria um efeito oligúrico e contribuiria para a isquemia renal – não está associada com significativas alterações tanto no rim do doador como no enxerto do receptor. No entanto, resultados semelhantes não foram encontrados nos estudos promovidos por LINDBERG et al. (2003) em porcos submetidos a uma PIA de 12 mmHg por 150 minutos, nos quais a dosagem de vasopressina na veia renal não revelou alteração nos níveis séricos. Os autores sugerem que outros mecanismos estariam envolvidos na gênese das alterações renais hemodinâmicas e no débito urinário pelo qual passa o rim em procedimentos laparoscópicos.

Em estudo utilizando como modelo animal o rato, HAZEBROEK et al. (2003) investigaram os efeitos renais em longo prazo do pneumoperitônio empregado na nefrectomia laparoscópica para transplante. Em 1 ano de observação os autores não detectaram nenhuma diferença na função e na histomorfologia renal no grupo de doadores quando comparados com o grupo controle.

Não foram encontradas na revisão de literatura realizada por meio de pesquisa na base de dados do *MEDLINE* nos últimos quinze anos, relatos dos efeitos de repetidos pneumoperitônios e suas conseqüências sobre a morfologia e função renal em situações de limitada reserva renal. Há porem, dados conflitantes na literatura em relação ao real papel dos fatores relacionados ao pneumoperitônio e a importância de cada um deles na fisiopatologia da disfunção renal.

3 MATERIAL E MÉTODO

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC/PR), Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e Laboratório de Análises Clínicas da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, e sua execução foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUC/PR (CEPA-CCBS) – anexo 1.

A manipulação laboratorial dos animais foi baseada nos relatos de Waynforth (WAYNFORTH; FLECKNELL, 1992), seguindo as disposições sobre a criação e o uso de animais para atividades de ensino e pesquisa, preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1999).

3.1 MODELO ANIMAL

Foram utilizados 48 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), provenientes do Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

Os animais foram pesados, confinados em caixas coletivas – com número máximo de cinco ratos por caixa –, mantidos durante todo o período de observação no biotério sob condições padronizadas de laboratório - temperatura entre 20 e 24°C, umidade relativa entre 50 e 60%, luz controlada (ciclo dia/noite de 12 horas: 8h/20h) – e alimentados com ração padrão para a espécie (Nuvilab-CR1 Nuvital® - Colombo, Paraná, Brasil) e água *ad libitum*. Nas 12 horas precedentes à realização do procedimento cirúrgico, os animais tiveram acesso somente a água potável, e a ração foi suspensa.

3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos neste estudo ratos machos adultos, com cerca de 120 dias de idade, peso entre 240 e 350 gramas, bom aspecto geral, ativos e sem evidência de doença à inspeção.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Excluíram-se do estudo os animais que foram a óbito durante o período do experimento e aqueles com alterações macroscópicas da morfologia renal, evidenciadas no momento da nefrectomia, caracterizadas como rins contraídos ou disformes, hidronefrose ou com sinais de retração cortical sugestivo de infecção renal crônica.

3.4 DESENHO DO EXPERIMENTO

Esta pesquisa consistiu, basicamente, na realização de pneumoperitônio com CO₂ a 15 mmHg em ratos, durante 2 e 4 horas, seguido de nefrectomia esquerda no primeiro momento (denominado MPP1). Novo pneumoperitônio foi realizado 4 semanas depois (MPP2). Após 8 semanas, no momento da eutanásia (ME), o rim remanescente foi removido em todos os animais. Os ratos do grupo controle submeteram-se aos mesmos procedimentos, porém sem insuflação de gás na cavidade abdominal.

3.5 GRUPOS E SUBGRUPOS

Os 48 ratos foram distribuídos de maneira aleatória, por sorteio, em três grupos denominados 1, 2 e 3. O Grupo 1, chamado Controle, contou com 24

animais, que foram subdivididos em Controle 1A, com 12 ratos, e Controle 1B, com 12 ratos. Doze animais fizeram parte do Grupo 2 e outros 12 do Grupo 3.

Os ratos do Grupo 1 foram mantidos anestesiados e puncionados por 2 horas (Controle 1A, n=12) e 4 horas (Controle 1B, n=12), porém sem aplicação de pneumoperitônio, isto é, com pressão intra-abdominal de 0 mmHg. Os ratos dos Grupos 2 e 3 foram submetidos a pneumoperitônio com PIA de 15 mmHg por 2 horas e 4 horas respectivamente, conforme demonstrado no quadro 1.

Os diversos grupos foram submetidos à observação temporal e a análise estatística por meio de estudo comparativo longitudinal e transversal.

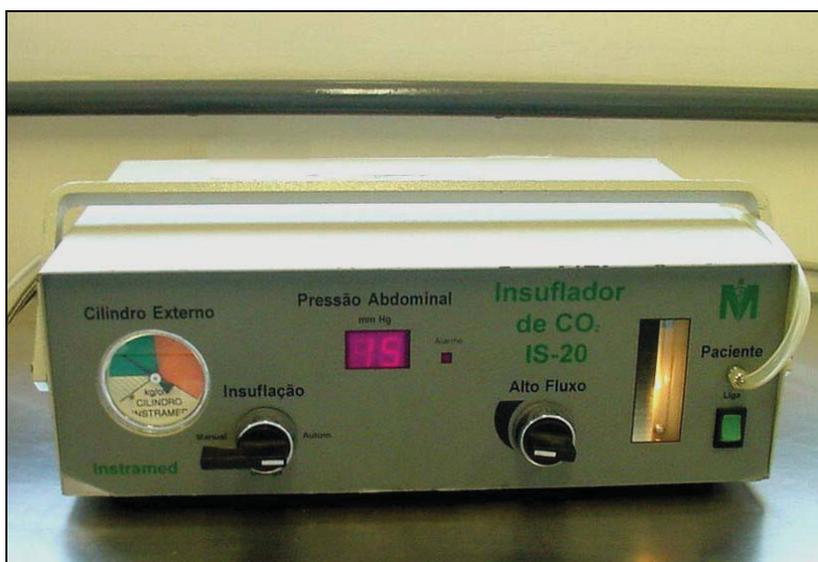
QUADRO 1. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS E SUBGRUPOS.

GRUPOS	SUBGRUPOS	Nº ANIMAIS	TEMPO	PNEUMOPERITÔNIO	PIA
Grupo 1	Controle 1A	n=12	2 horas	Não	0 mmHg
	Controle 1B	n=12	4 horas	Não	0 mmHg
Grupo 2		n=12	2 horas	Sim	15 mmHg
Grupo 3		n=12	4 horas	Sim	15 mmHg
TOTAL		n=48			

3.6 EQUIPAMENTO E INSTRUMENTAL

Os procedimentos cirúrgicos foram executados em ambiente de laboratório específico para a manipulação de animais de experimentação, utilizando-se o seguinte material:

- a) insuflador de CO₂ automático Instramed® - (figura 1);
- b) agulha de Veress 14G;
- c) cateter Jelco Intravascular 18 G;
- d) distribuidor de fluxo de gás;
- e) material de pequena cirurgia.

FIGURA 1 - INSUFLADOR AUTOMÁTICO DE CO₂

3.7 TÉCNICA OPERATÓRIA

3.7.1 Determinação do Peso dos Animais

No início do experimento, todos os ratos foram pesados em balança eletrônica de alta precisão (Ohaus® Precision Standard - modelo TS-2KS, Bradford, UK).

3.7.2 Ato Anestésico

A indução anestésica foi obtida com injeção intramuscular de cloridrato de ketamina 50 mg e xilazina 10 mg por quilograma de peso corporal (MOREIRA et al. 2002). A manutenção anestésica foi realizada por via inalatória com éter sulfúrico, pelo método campânula-máscara em respiração espontânea (GOLDENBERG et al., 1997).

3.7.3 Preparo e Posição dos Animais

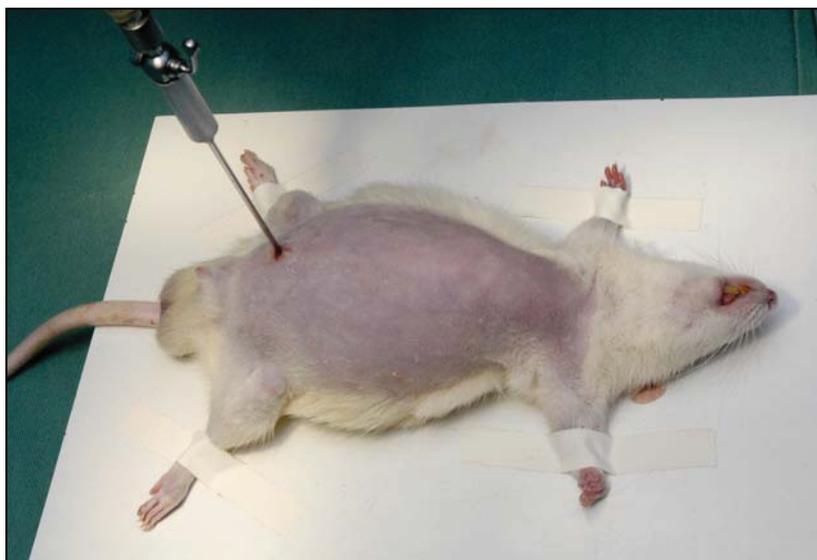
Os animais foram submetidos a tricotomia do abdome e flanco esquerdo e posicionados em decúbito dorsal horizontal numa prancha de cortiça, com os quatro

membros fixados à mesa cirúrgica. A anti-sepsia da parede abdominal foi realizada com gaze embebida em álcool 70% (BERGUER et al., 1993).

3.7.4 Descrição do Procedimento

O animal, depois de anestesiado e posicionado, foi submetido a punção da cavidade abdominal com agulha de Veress introduzida na linha média da porção inferior do abdômen (figura 2). Tração manual da parede abdominal anterior foi necessária para a punção, a fim de evitar lesão de estruturas intraperitoneais.

FIGURA 2 - PUNÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL



Para indução do pneumoperitônio utilizou-se insuflador eletrônico de CO₂ (Instramed® modelo IS-20, Porto Alegre-Brasil) com fluxo máximo de 2,5 ml/min, conectado a um dispositivo distribuidor de gás (HAJAR et al., 2002); este, por sua vez, foi conectado a quatro animais simultaneamente. Depois de atingida a pressão de 15 mmHg, a agulha de Veress foi removida e substituída por cateter jelco intravascular 18G (Ethicon, Bruxelles, Belgium), para facilitar a manutenção da insuflação de gás (figura 3).

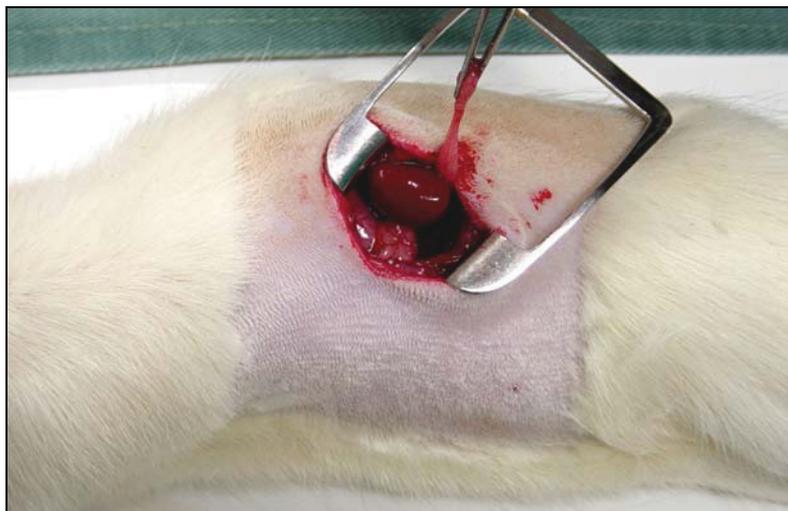
FIGURA 3 - PNEUMOPERITÔNIO INSTALADO



O tempo de exposição ao pneumoperitônio foi mantido até o cumprimento do período predeterminado para cada grupo, conforme descrito anteriormente. Os animais do Grupo 1 (Controle) foram mantidos anestesiados e puncionados com agulha, porém sem insuflação de gás (PIA de 0 mmHg). Ao final, procedeu-se à desinsuflação do pneumoperitônio por meio de abertura do cateter para o meio externo, permitindo a saída de todo o gás do abdome.

Concluída a primeira etapa, os animais foram mobilizados para o decúbito lateral direito, a fim de submeter-se a nefrectomia esquerda. Realizada incisão lombar subcostal esquerda de aproximadamente 2 cm interessando pele, tecido celular subcutâneo e planos musculares. Procedeu-se à dissecação cuidadosa do rim e do ureter superior (figura 4). O pedículo vascular renal foi isolado e ligado com fio de algodão 3-0, e em seguida seccionado para remoção da peça cirúrgica. Realizou-se minuciosa revisão da hemostasia, seguida de síntese da parede em dois planos, utilizando catagute simples 3-0 para sutura contínua dos planos musculares e fio mononylon 4-0 para sutura da pele. Nenhum fluido foi administrado aos animais durante todo o procedimento cirúrgico.

FIGURA 4 - NEFRECTOMIA ESQUERDA



3.8 OBSERVAÇÃO PÓS-OPERATÓRIA DOS ANIMAIS E EUTANÁSIA

Após o ato cirúrgico e identificação nas patas por meio de marcação seqüencial com tinta, os animais – em grupos de no máximo cinco – foram alojados em caixas e encaminhados ao biotério, onde permaneceram em observação com livre acesso a água e ração.

Para a realização do segundo pneumoperitônio (MPP2) repetiram-se os mesmos passos adotados no primeiro quanto ao procedimento anestésico e à punção da cavidade abdominal.

Depois de oito semanas de observação, todos os animais foram submetidos a laparotomia mediana para remoção do rim remanescente e em seguida sofreram eutanásia por meio de intoxicação anestésica com éter sulfúrico em recipiente fechado.

3.9 ANÁLISE FUNCIONAL

Ao longo do estudo, por meio de punção cardíaca, foram feitas três coletas de sangue para dosagem da creatinina sérica: no início – antes da instalação do primeiro pneumoperitônio –; após quatro semanas imediatamente antes do segundo pneumoperitônio e finalmente no momento da eutanásia (LEE et al., 1999).

Empregou-se para dosagem da creatinina sérica o método colorimétrico-cinético de Jaffé, utilizando auto-analisador Cobas Mira S (Roche® - Suíça). Como valor referencial da creatinina no rato foram definidas concentrações séricas entre 0,10 e 1,30 mg/dl (LOEB, 1997).

3.10 ANÁLISE MORFOLÓGICA

Realizou-se análise morfológica comparativa do rim removido na primeira intervenção e do remanescente, para determinação de eventuais alterações microscópicas em nível glomerular e tubular resultantes da isquemia provocada pelo pneumoperitônio.

A preparação do material histológico seguiu os métodos de histotécnica habituais (PROPHET et al., 1994). O rim removido foi fixado em solução aquosa de formol a 10% por 24 horas e o material amostrado submetido a processamento por meio de desidratação com álcool etílico em concentrações progressivas de 70 a 100%; diafanização em xilol; impregnação por parafina a 58°C e constituição do bloco. Na seqüência, esse bloco foi submetido a cortes de 3 µm de espessura, os quais foram colocados em lâminas de vidro e corados com hematoxilina-eosina (H&E) e pela técnica do PAS (ácido periódico Schiff) com digestão.

A análise e interpretação anatomopatológica foi realizada por dois observadores, sem conhecimento prévio dos grupos e subgrupos em estudo.

3.10.1 Exame Microscópico

O estudo dos parâmetros histológicos e morfológicos foi efetuado por meio de microscopia óptica com auxílio do microscópio Olympus® Bx50 (Olympus, Tóquio, Japão).

As variáveis histomorfológicas foram obtidas pela mensuração de cinco glomérulos por rim analisado. Foram mensurados aqueles cujos pólos vascular e urinário estavam representados, indicando secção na porção equatorial do glomérulo. Efetuou-se a avaliação morfométrica por meio do programa Optimas® 6,2 para Windows®, acoplado a microscópio Olympus Bx50 e câmara de vídeo Sony® (Sony Inc., Japão); utilizou-se o aplicativo chamado Morfometria de Linhas, calibrado previamente em micrômetro.

Os parâmetros avaliados nos cortes histológicos foram: diâmetro e área glomerular, número de células mesangiais e presença ou não de esclerose glomerular.

Para obter o diâmetro glomerular, mediu-se a porção equatorial do glomérulo fazendo, com o cursor do *mouse*, um traçado entre os limites do tufo glomerular (DANILEWICZ et al., 1998) - figura 5A .

A área glomerular foi calculada por meio da captura da imagem de cada glomérulo, e, a partir do posicionamento do cursor na área central, foi estabelecida uma linha externa circundando o tufo glomerular, conforme descrito por AKAOKA et al. (1994) - figura 5B.

O volume glomerular médio foi calculado de acordo com os critérios preconizados por Van Damme e Koudstaal. Para estimativa do volume do glomérulo empregou-se a fórmula $4/3\pi.r^3$, que corresponde ao volume da esfera, na qual “r” representa o raio (PAGTALUNAN et al., 2000).

O número de células mesangiais foi obtido contando todas as células do glomérulo por meio de morfometria computadorizada e aplicando ao número

encontrado a relação 2:3:1 – células mesangiais:células endoteliais:podócitos, respectivamente –, que é a proporção estimada das células nos glomérulos do rato (JENETTE et al., 1998) (figura 5C).

FIGURA 5A - MEDIDA DO DIÂMETRO GLOMERULAR

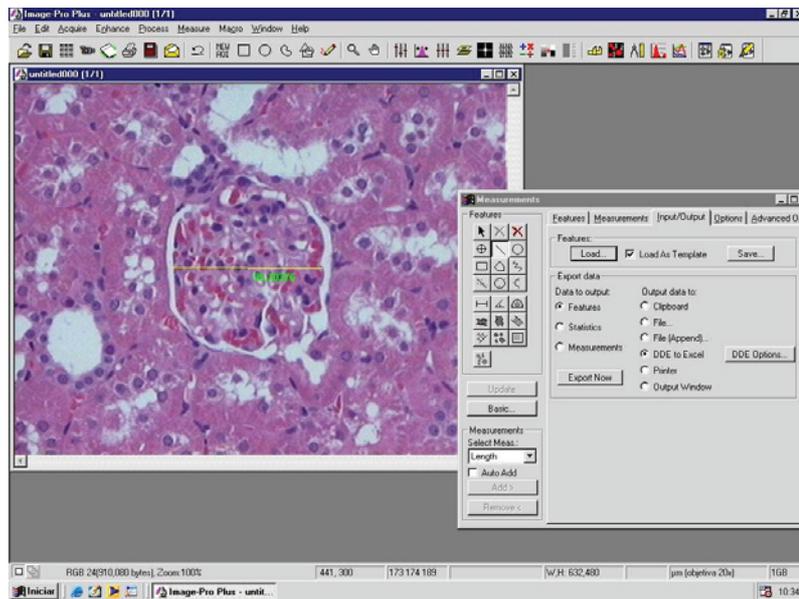


FIGURA 5B - MEDIDA DA ÁREA GLOMERULAR

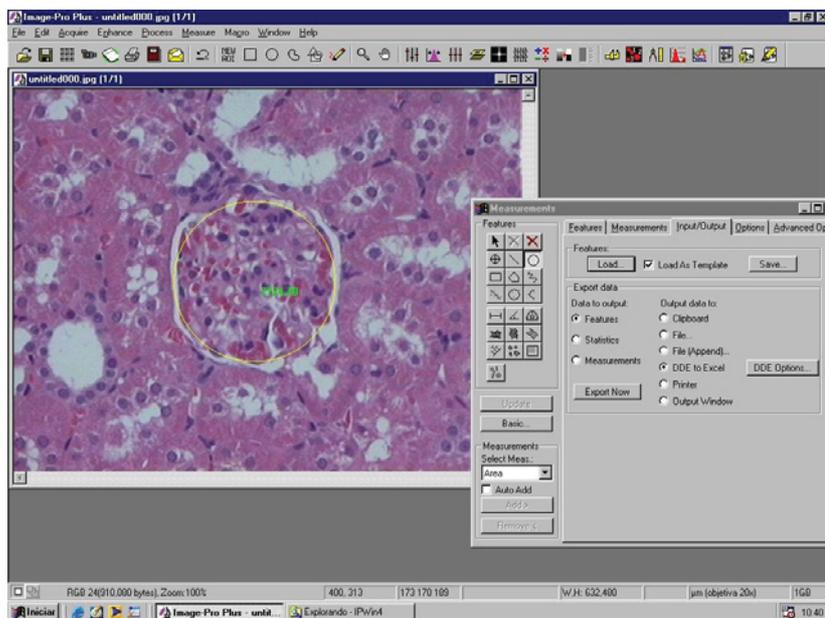
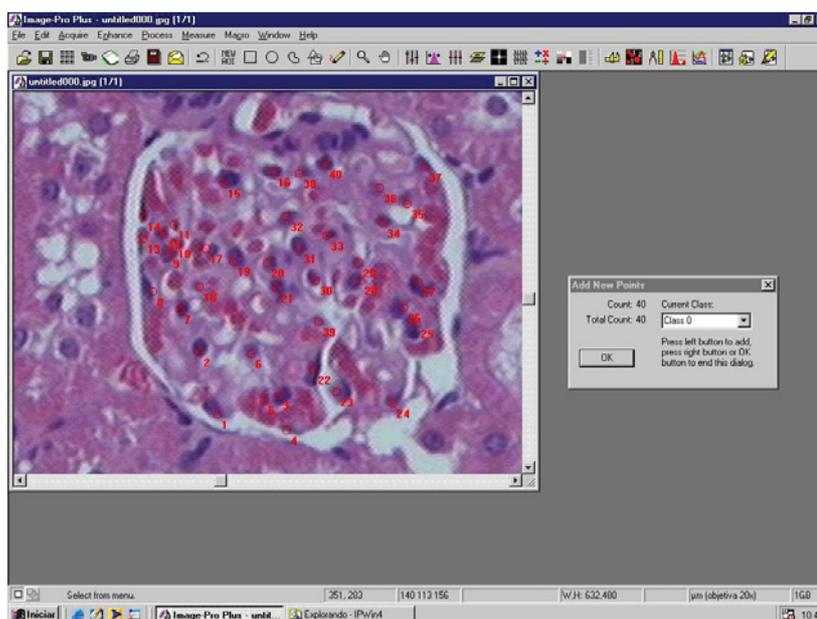


FIGURA 5C - CONTAGEM DO NÚMERO DE CELULAS MESANGIAIS



NOTA: As figuras 5A, 5B, 5C ilustram a imagem da tela do computador com o programa Optimas® 6.2 para Windows®, nas quais estão demonstradas as ferramentas usadas para o estudo morfométrico.

Definiu-se esclerose glomerular como alteração parcial ou completa dos glomérulos, causada por deposição subendotelial e mesangial de material hialino, aumento da matriz mesangial e colapso dos capilares glomerulares com adesão do tufo à cápsula de Bowman (GROND et al., 1986b; LAFERTY, BRENNER, 1990).

3.11 METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Para a análise descritiva dos dados recorreu-se a tabelas e gráficos. Para comprovação dos objetivos propostos neste trabalho utilizou-se o teste paramétrico “t de Student” (amostras independentes e pareadas), os não-paramétricos “Mann-Whitney” (amostra independente) e “Wilcoxon” (amostra pareada), com auxílio do *software* Primer of Biostatistics.

O nível de significância adotado foi menor que 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 PESO DOS ANIMAIS

O peso médio dos 48 ratos no início do experimento foi de $276,1 \pm 27,9$ g, variando de 240 a 350 g.

Embora não se tivesse observado diferença significativa na comparação dos grupos em relação ao peso dos animais, ressalta-se que o Grupo 2 (2 horas), quando comparado com o Controle 1A, apresentou probabilidade limítrofe, indicando tendência ($p=0,052$). A tabela 5 no apêndice 2, apresenta dados estatísticos relativos ao peso médio dos animais e desvio padrão encontrados no estudo, além de análise comparativa entre os grupos e o nível de significância.

4.2 PERDAS DE ANIMAIS

Sete ratos A no total morreram por ocasião do procedimento cirúrgico: dois na indução anestésica; três durante a manutenção do pneumoperitônio, provavelmente por depressão respiratória; um após a punção cardíaca no momento da coleta de sangue e um depois de apresentar sangramento abdominal importante decorrente de lesão de órgão intra-abdominal provocada pela agulha de punção. Todos esses animais foram excluídos do estudo e substituídos. Nenhum rato morreu durante o período de observação pós-operatória.

4.3 ANÁLISE FUNCIONAL

Os resultados referentes aos dados bioquímicos de creatinina sérica (mg/dl) observados nos grupos Controle e Grupos 2 e 3 nos três momentos – imediatamente antes do primeiro pneumoperitônio (MPP1), do segundo

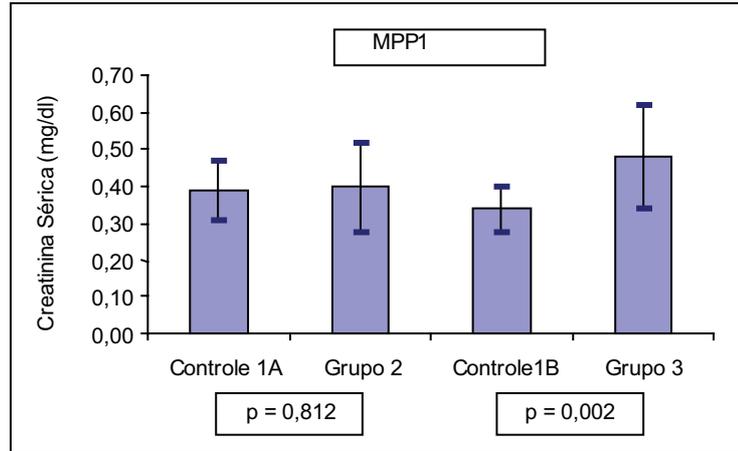
pneumoperitônio (MPP2) e no momento da eutanásia (ME) – estão demonstrados na tabela 1.

Na comparação dos grupos (análise entre grupos) em relação à creatinina sérica dos ratos, foi observada diferença significativa para o Grupo 3 (4 horas), com valores mais altos no momento do primeiro procedimento (MPP1) ($p=0,002$), conforme demonstrado no Gráfico 1; no momento MPP2 em 4 semanas ($p=0,012$) (gráfico 2) e no de 8 semanas (ME) ($p=0,010$) (gráfico 3), quando comparados ao grupo Controle 1B (4 horas).

TABELA 1- ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS EM ESTUDO (mg/dl)

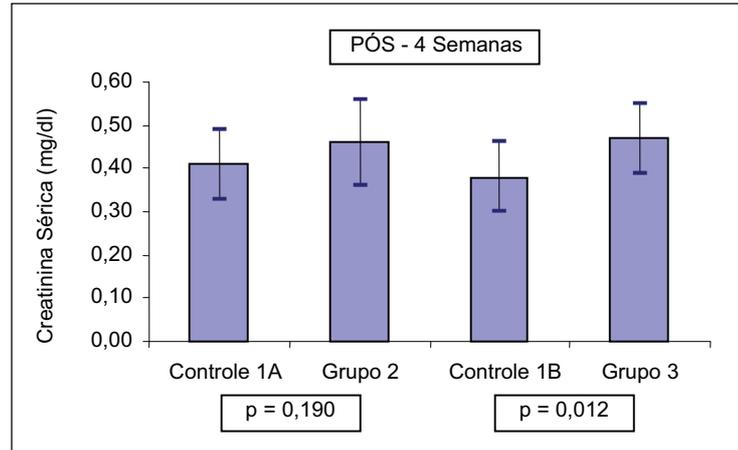
DADOS	Nº	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO
MPP1	48	0,40	0,11	0,24	0,72
Controle 1A (2h)	12	0,39	0,08	0,29	0,51
Controle 1B (4h)	12	0,34	0,06	0,24	0,41
Grupo 2 (2h)	12	0,40	0,12	0,24	0,70
Grupo 3 (4h)	12	0,48	0,12	0,35	0,72
MPP2 - 4 Semanas	48	0,43	0,09	0,26	0,61
Controle 1A (2h)	12	0,41	0,08	0,28	0,54
Controle 1B (4h)	12	0,38	0,08	0,30	0,54
Grupo 2 (2h)	12	0,46	0,10	0,26	0,61
Grupo 3 (4h)	12	0,47	0,08	0,39	0,60
ME - 8 Semanas	48	0,46	0,13	0,20	0,79
Controle 1A (2h)	12	0,42	0,10	0,25	0,56
Controle 1B (4h)	12	0,40	0,10	0,20	0,50
Grupo 2 (2h)	12	0,50	0,15	0,20	0,76
Grupo 3 (4h)	12	0,54	0,14	0,37	0,79

GRÁFICO 1 - CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO - MPP1



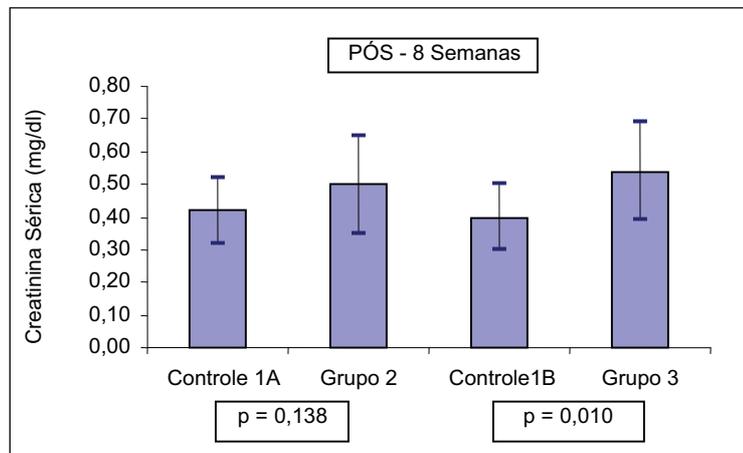
FONTE: Tabela 1

GRÁFICO 2 - CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO - MPP2



FONTE: Tabela 1

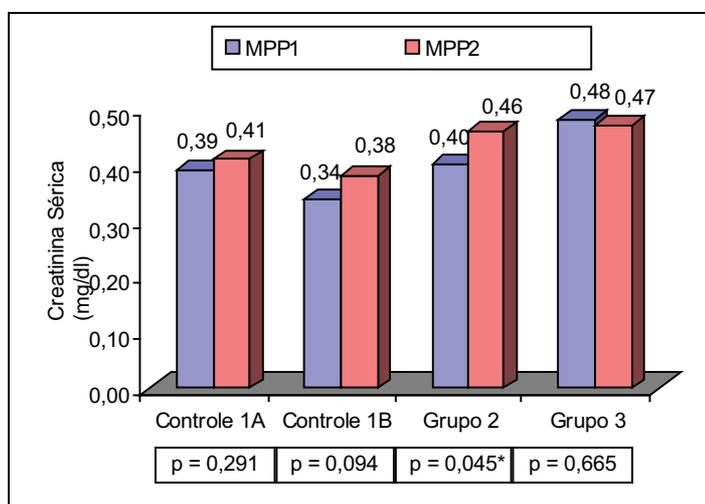
GRÁFICO 3 - CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO - ME



FONTE: Tabela 1

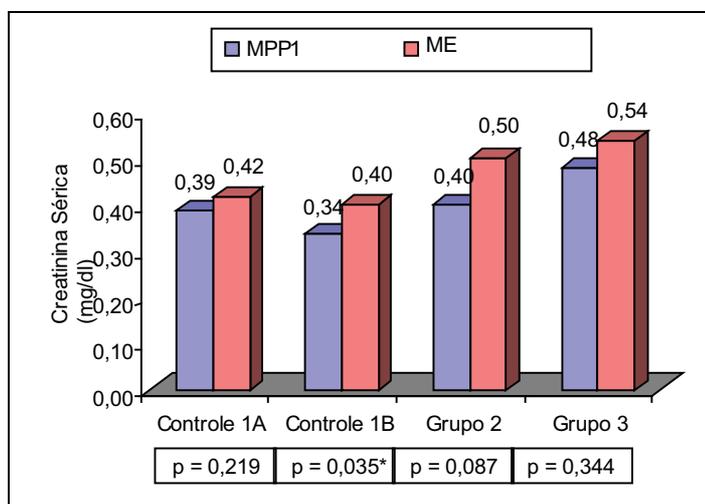
Confrontando a creatinina sérica nos diversos momentos de observação (análise intragrupo), foi observada diferença significativa apenas para o Grupo 2 (2 horas) quando a comparação foi realizada entre MPP1 e MPP2 ($p=0,045$) (gráfico 4), e para o Controle 1B quando comparado MPP1 e ME ($p=0,035$), demonstrando valores mais elevados da creatinina sérica no momento da eutanásia (ME) (gráfico 5). Nos demais grupos não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas durante o período de observação.

GRÁFICO 4 - CREATININA SÉRICA – MPP1 X MPP2 (4 SEMANAS)



FONTE: Tabela 1. (*) $p < 0,05$

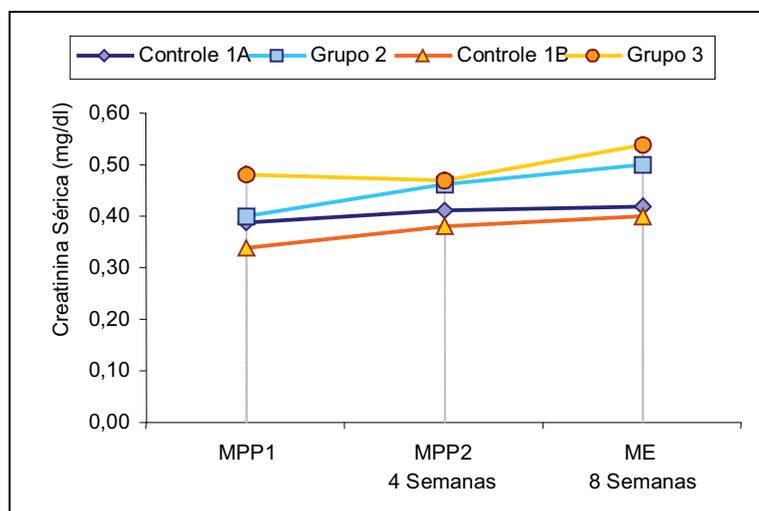
GRÁFICO 5 - CREATININA SÉRICA – MPP1 X ME (8 SEMANAS)



FONTE: Tabela 1. (*) $p < 0,05$

A representação gráfica da evolução da creatinina sérica nos diferentes grupos e momentos está demonstrada no gráfico 6.

GRÁFICO 6 - EVOLUÇÃO DA CREATININA SÉRICA NOS GRUPOS DE ESTUDO



FONTE: Tabela 1

A análise estatística dos resultados de creatinina sérica obtidos nos diversos momentos do estudo está demonstrada nas tabelas 6 e 7 (apêndice 2), bem como o resultado dos testes aplicados e o nível de significância observado. Realizou-se um estudo comparativo intragrupo e entre grupos por meio de testes específicos.

4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA

As tabelas 2 e 3 resumem os resultados da análise morfológica nos grupos estudados, demonstrando os valores relativos ao diâmetro glomerular (μm), ao volume glomerular (μm^3), à área glomerular (μm^2) e ao número de células mesangiais presentes nos glomérulos avaliados. Os dados da tabela 2 referem-se à análise histomorfométrica do rim esquerdo no MPP1 e os da tabela 3 aos dados avaliados no ME relativos ao rim remanescente.

Na comparação dos grupos (análise entre grupos) em relação ao estudo morfométrico foi observada diferença significativa apenas no Grupo 2 no momento MPP1 quando comparado com o Controle 1A nos parâmetros diâmetro glomerular médio ($p=0,023$) (gráfico 7), volume glomerular médio ($p=0,032$) (gráfico 8) e área glomerular média ($p=0,035$) (gráfico 9). Nos casos descritos, o Grupo 2 apresentou valores mais altos. Também em relação ao número de células mesangiais verificou-se diferença estatisticamente significativa apenas no Grupo 2 quando comparado ao Controle 1A na análise do rim remanescente no momento ME ($p=0,033$) (gráfico 10).

TABELA 2 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO NOS GRUPOS EM ESTUDO – MPP1

DADOS	Nº	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIANA
DIÂMETRO GLOMERULAR (μm)	48	119,30	13,05	102,52	155,93	-
Controle 1A (2h)	12	115,31	10,41	104,54	134,57	-
Controle 1B (4h)	12	115,31	11,41	102,52	141,01	-
Grupo 2 (2h)	12	125,12	9,18	109,35	140,94	-
Grupo 3 (4h)	12	121,46	18,11	102,79	155,93	-
VOLUME GLOMERULAR ($\mu\text{m}^3 \times 10^6$)	48	0,96	⁽¹⁾ 0,35	0,57	2,12	0,88
Controle 1A (2h)	12	0,86	0,24	0,61	1,32	-
Controle 1B (4h)	12	0,87	⁽¹⁾ 0,30	0,57	1,56	0,85
Grupo 2 (2h)	12	1,09	0,26	0,71	1,56	-
Grupo 3 (4h)	12	1,05	⁽¹⁾ 0,52	0,59	2,12	0,85
ÁREA GLOMERULAR (μm^2)	48	8 954,5	1 411,6	7 174,0	12 921,0	-
Controle 1A (2h)	12	8 438,8	994,6	7 237,0	9 836,0	-
Controle 1B (4h)	12	8 511,0	1 119,4	7 174,0	10 478,0	-
Grupo 2 (2h)	12	9 591,2	1 466,8	7 775,0	12 769,0	-
Grupo 3 (4h)	12	9 276,8	1 749,1	7 222,0	12 921,0	-
Nº DE CÉLULAS MESANGIAIS	48	21,1	2,8	17,0	28,0	-
Controle 1A (2h)	12	20,6	2,3	18,0	24,0	-
Controle 1B (4h)	12	20,8	2,3	17,0	25,0	-
Grupo 2 (2h)	12	21,6	3,5	17,0	28,0	-
Grupo 3 (4h)	12	21,7	3,1	17,0	26,0	-

(1) Desvio padrão muito elevado, recomenda-se utilizar a mediana.

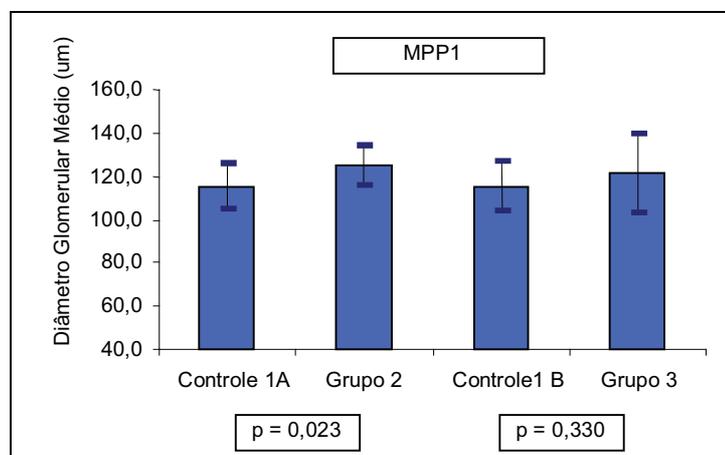
TABELA 3 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO NOS GRUPOS EM ESTUDO – ME

DADOS	Nº	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIANA
DIÂMETRO GLOMERULAR (μm)	48	123,26	14,19	102,06	160,47	-
Controle 1A (2h)	12	118,73	11,41	106,72	142,67	-
Controle 1B (4h)	12	120,19	10,39	106,67	142,52	-
Grupo 2 (2h)	12	125,10	15,06	106,76	150,75	-
Grupo 3 (4h)	12	129,03	17,95	102,06	160,47	-
VOLUME GLOMERULAR ($\mu\text{m}^3 \times 10^6$)	48	1,07	⁽¹⁾ 0,41	0,58	2,47	0,94
Controle 1A (2h)	12	0,94	⁽¹⁾ 0,29	0,67	1,55	0,88
Controle 1B (4h)	12	0,98	0,26	0,67	1,55	-
Grupo 2 (2h)	12	1,11	⁽¹⁾ 0,42	0,65	1,85	0,95
Grupo 3 (4h)	12	1,26	⁽¹⁾ 0,56	0,58	2,47	1,15
ÁREA GLOMERULAR (μm^2)	48	9 088,0	1 414,8	7 200,0	12 839,0	-
Controle 1A (2h)	12	8 799,6	1 407,9	7 303,0	11 146,0	-
Controle 1B (4h)	12	8 814,5	1 086,3	7 452,0	10 384,0	-
Grupo 2 (2h)	12	9 125,5	1 502,3	7 574,0	12 839,0	-
Grupo 3 (4h)	12	9 612,3	1 630,8	7 200,0	12 507,0	-
Nº DE CÉLULAS MESANGIAIS	48	21,6	2,9	15,0	30,0	-
Controle 1A (2h)	12	20,4	2,1	15,0	24,0	-
Controle 1B (4h)	12	21,9	2,4	19,0	28,0	-
Grupo 2 (2h)	12	22,8	3,0	18,0	28,0	-
Grupo 3 (4h)	12	21,4	3,9	15,0	30,0	-

(1) Desvio padrão muito elevado, recomenda-se utilizar a mediana.

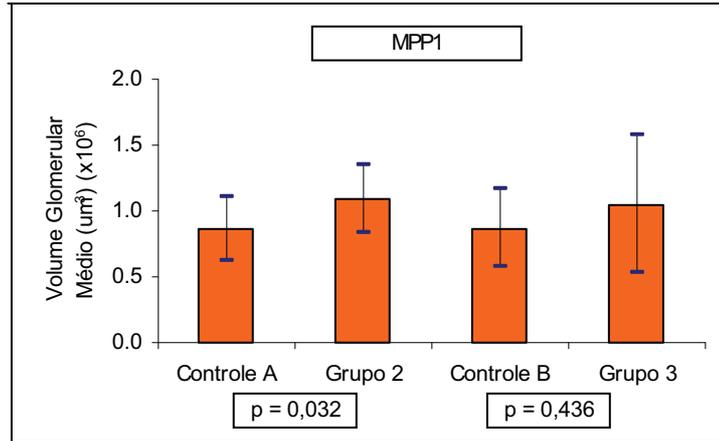
Os resultados morfológicos comparativos entre grupos só estão expressos nos gráficos abaixo quando ao menos uma das variáveis estudadas apresentou significância estatística.

GRÁFICO 7 - DIÂMETRO GLOMERULAR MÉDIO ENTRE GRUPOS DE ESTUDO - MPP1



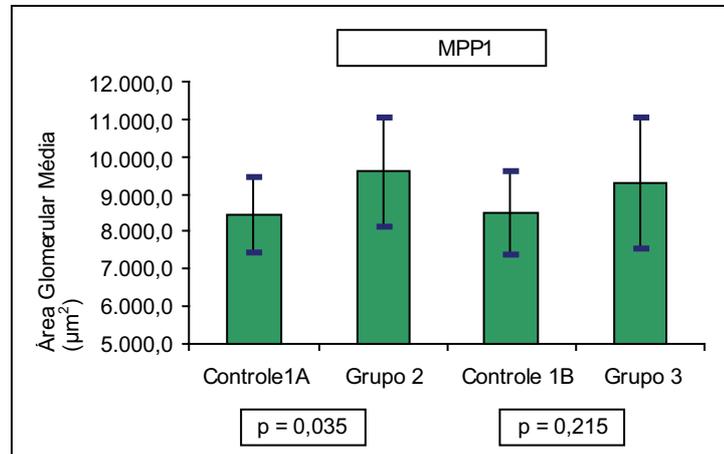
FONTE: Tabela 2

GRÁFICO 8 - VOLUME GLOMERULAR MÉDIO ENTRE GRUPOS DE ESTUDO – MPP1



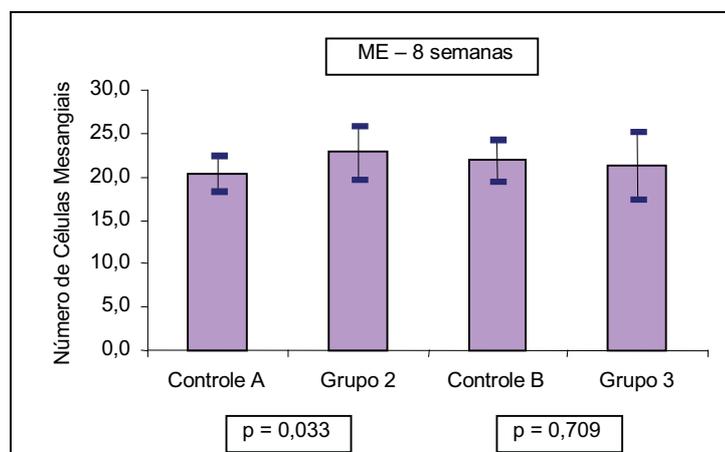
FONTE: Tabela 2

GRÁFICO 9 - MEDIDAS DA ÁREA GLOMERULAR MÉDIA ENTRE GRUPOS DE ESTUDO – MPP1



FONTE: Tabela 2

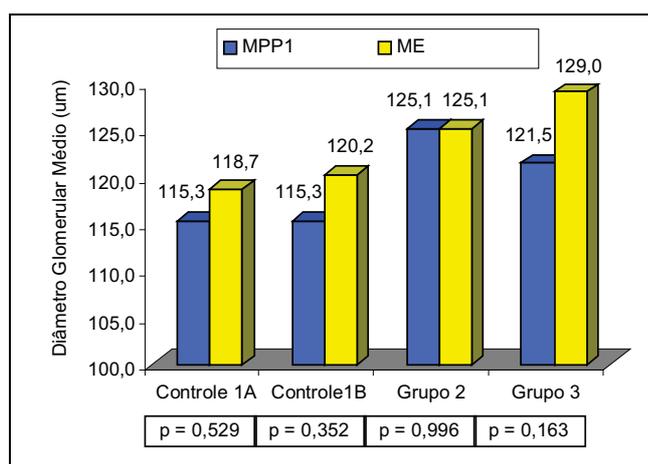
GRÁFICO 10 - NÚMERO MÉDIO DE CÉLULAS MESANGIAIS, ENTRE GRUPOS DE ESTUDO - ME (RIM REMANESCENTE)



FONTE: Tabela 3

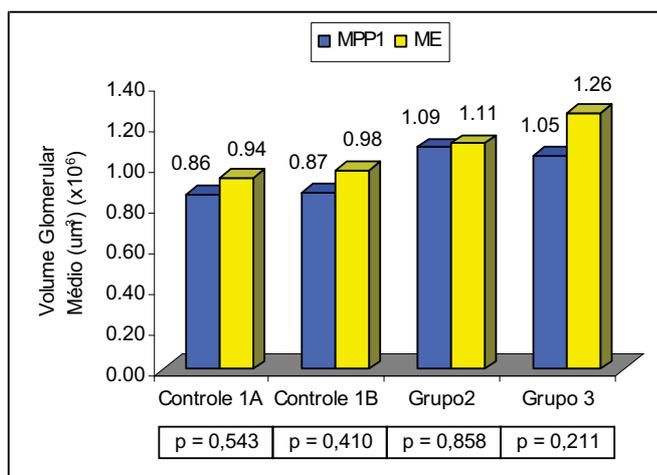
No estudo morfométrico comparativo entre o rim removido na primeira intervenção (MPP1) e o rim remanescente (ME) (análise intragrupo) não foi observada diferença significativa em nenhum caso, conforme evidenciado nos gráficos 11 a 14.

GRÁFICO 11 - DIÂMETRO GLOMERULAR MÉDIO - INTRAGRUPOS



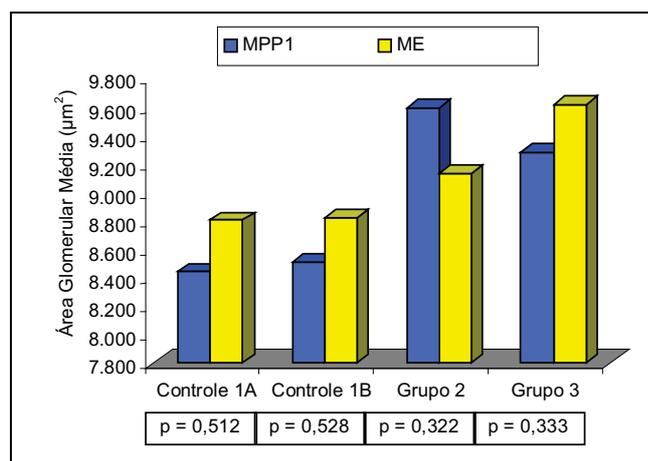
FONTE: Tabelas 2 e 3

GRÁFICO 12 - VOLUME GLOMERULAR MÉDIO - INTRAGRUPOS



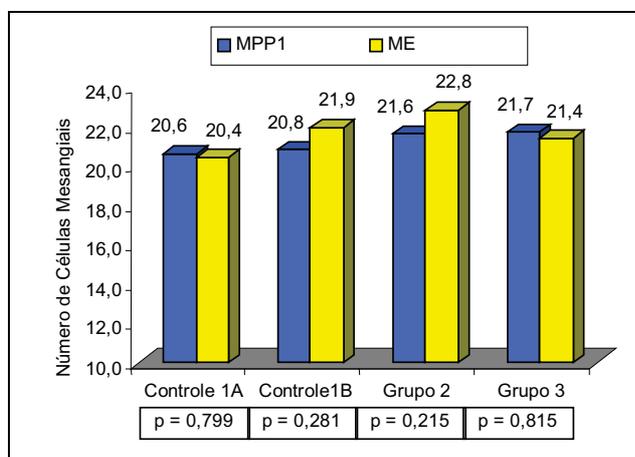
FONTE: Tabelas 2 e 3

GRÁFICO 13 - ÁREA GLOMERULAR MÉDIA - INTRAGRUPOS



FONTE: Tabelas 2 e 3

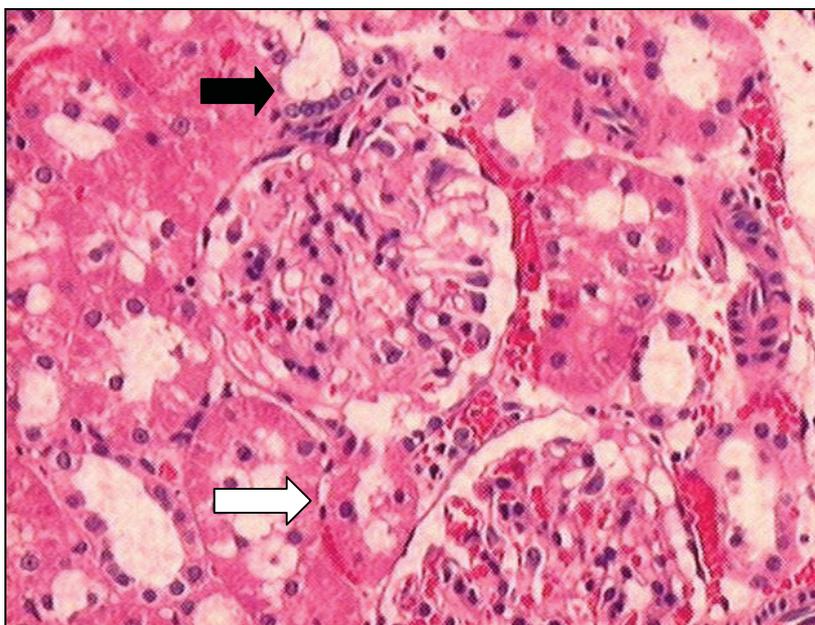
GRÁFICO 14 - NÚMERO MÉDIO DE CÉLULAS MESANGIAIS - INTRAGRUPOS



FONTE: Tabelas 2 e 3

A variável esclerose glomerular foi pesquisada inicialmente no rim removido na primeira intervenção cirúrgica, e também no rim remanescente após um período de observação de 8 semanas. Nenhuma alteração histológica condizente com lesão glomerular, caracterizada por esclerose segmentar ou focal, foi evidenciada em ambas as situações nos diferentes grupos de animais estudados conforme demonstrado na figura 6.

FIGURA 6 - GLOMÉRULO DE RIM REMANESCENTE COM MORFOLOGIA NORMAL



NOTA: Fotomicrografia de glomérulo normal onde se observam o pólo vascular (seta preta) e o pólo urinário (seta branca). (H&E - 200x) - Rato 10 Grupo 3 ME.

As tabelas 8 e 9 exprimem os resultados dos testes estatísticos empregados no estudo morfométrico nos diversos grupos. Foi efetuada análise comparativa intragrupo e entre grupos dos dados histológicos obtidos na primeira intervenção cirúrgica (MPP1) e na última quando da remoção do rim remanescente (ME) - apêndice 2.

5 DISCUSSÃO

A cirurgia laparoscópica utilizando insuflação de gás intraperitoneal e conseqüente aumento da pressão intra-abdominal está associada a oligúria em humanos e animais (HAZEBROEK et al., 2002b; NGUYEN et al., 2002). Em indivíduos saudáveis e com boa função renal esse estado é em geral transitório e não deixa seqüelas (CHANG et al., 1994). Considerando a crescente aplicação dos procedimentos laparoscópicos e sua duração, essa sutil anormalidade pode tornar-se clinicamente significativa, particularmente quando empregada em pacientes com reduzida reserva renal (NISHIO et al., 1999; CISEK et al., 1998).

A nefrectomia laparoscópica para transplante representa um incentivo às doações, por reduzir a morbidade do doador (JACOBS et al., 2004). Com o advento dessa técnica, a preocupação com a isquemia renal resultante do aumento da pressão abdominal sobre a função e a histomorfologia do rim remanescente do doador se tornou evidente. (HAZEBROEK et al., 2002c).

Vários estudos experimentais têm procurado esclarecer os efeitos hemodinâmicos do pneumoperitônio sobre o rim. No entanto a isquemia renal observada em animais sob PIA de 15 mmHg pode não ser aplicável ao corpo humano. O rim humano, localizado no espaço retroperitoneal, está em íntimo contato com grande número de estruturas; nele o peritônio e a cápsula renal são mais rígidos e a gordura perirrenal é mais abundante do que em ratos e porcos. É possível que uma pressão intra-abdominal de 15 mmHg exerça efeitos mínimos no parênquima renal humano (CHIU et al., 1995).

Um postulado bem definido a respeito dos efeitos isquêmicos do pneumoperitônio afirma que a redução do fluxo sanguíneo renal, ocasionada pelo aumento da PIA, poderá resultar em disfunção ou falência renal se for prolongada ou intensa o bastante (LEE et al., 1999; HARMAN et al., 1982). O significado clínico dessas alterações em animais e em humanos ainda permanece incerto, e estudos ainda são necessários para o seu esclarecimento.

5.1 DESENHO EXPERIMENTAL

5.1.1 Modelo Animal

No início da década de 90, o rato foi proposto como modelo experimental para a videocirurgia porque, pelo fato de ser um animal bastante estudado, os conhecimentos acumulados facilitariam a investigação dos efeitos fisiológicos da cirurgia minimamente invasiva (BERGUER et al., 1993). Em acordo com tais critérios, GOLDENBERG et al. (1997) propõem a videolaparoscopia em ratos, ressaltando a facilidade de manutenção do animal em estudos prolongados. Esse modelo animal permite avaliação detalhada das alterações hemodinâmicas, a observação do débito urinário e as análises bioquímicas e histológicas relacionadas ao pneumoperitônio. Por essas razões, optou-se pelo rato como modelo animal deste estudo.

5.1.2 Instalação do Pneumoperitônio

Vários gases têm sido experimentados para induzir o pneumoperitônio: dióxido de carbono (LONDON et al., 2000), argônio (McDOUGALL et al., 1996), hélio (IRGAU et al., 1997) e óxido nítrico (SCHÄFER et al., 2001b). O CO₂ permanece como o gás mais comumente utilizado em laparoscopia. É amplamente disponível nas salas cirúrgicas, relativamente barato e usualmente bem tolerado pelos pacientes e animais. Devido a sua alta capacidade de difusão, é prontamente absorvido e rapidamente expirado pelos pulmões (LINDSTRÖM et al., 2003; KUNTZ et al., 2000).

Segundo estudos de HAZEBROEK et al. (2002d), o pneumoperitônio obtido por meio da insuflação de CO₂ é bem tolerado por ratos sob ventilação espontânea, e seus efeitos cardiorrespiratórios são similares àqueles obtidos em pacientes ventilados sob anestesia geral. Tais achados asseguram que ventilação

mecânica não é rotineiramente necessária na laparoscopia experimental, por esse motivo os ratos foram mantidos sob ventilação espontânea nessa pesquisa.

5.1.3 Pressão do Pneumoperitônio

O efeito do pneumoperitônio sobre a função renal é pressão-dependente. Transitória disfunção renal é observada a pressões intra-abdominais iguais ou superiores a 10 mmHg (CLEVA et al., 2001; IWASE et al., 1993).

BERGUER et al. (1997), avaliando as alterações hemodinâmicas decorrentes da PIA em ratos que sofreram insuflação de CO₂ com pressões de 2, 5, 10 e 15 mmHg, determinaram que a pressão máxima para mantê-los em respiração espontânea é de 10 mmHg. Pressões superiores deverão ser evitadas em procedimentos laparoscópicos em ratos, devido a bradicardia e à acidose respiratória resultantes (JUNGHANS et al., 1997; MERGH et al., 1996). Embora verdadeiras essas conclusões, diversos estudos experimentais têm empregado pressões mais elevadas para definição dos limites pneumoperitônio (BANNENBERG et al., 1997; ADAMS et al., 1999; BIONDO-SIMÕES et al., 2001). Com base nesses relatos, optou-se nesta pesquisa pela manutenção do pneumoperitônio em 15 mmHg, considerada pressão limítrofe na prática clínica, constituindo desse modo um risco cirúrgico maior para o desenvolvimento de eventuais danos ao rim remanescente do rato, expondo-o a níveis elevados de pressão.

Está bem documentado o conceito de que baixa pressão abdominal em cirurgias videolaparoscópicas não causa significativa alteração na pressão arterial, no fluxo sangüíneo renal e nos diversos órgãos intraperitoneais (CHIU et al., 1995). Porém não está ainda bem definido o nível ideal de pressão a ser empregado, cujos valores não induzam a significativas alterações fisiológicas. É questionável a realização de laparoscopia a baixas pressões, ou seja, menores de 10 mmHg, pois a exposição e a visibilidade da cavidade pode ser limitada, especialmente em pacientes obesos (ROSIN et al., 2002). Estudos subseqüentes são necessários para

definir o valor ideal da PIA para que se possa obter satisfatória exposição do campo cirúrgico com mínimos efeitos adversos.

Na realização deste trabalho foi empregado um gradiente de pressão constante similar ao descrito por HO et al. (1992), eliminando assim os efeitos do aumento progressivo da PIA que permitem ao corpo adaptar-se conforme a pressão se eleva. Utilizando este desenho experimental, por meio de uma pressão de insuflação fixa com CO₂, acredita-se ser o estudo mais representativo da prática clínica diária e dos modelos utilizados em pesquisas experimentais.

5.1.4 Tempo de Exposição ao Pneumoperitônio

O tempo do pneumoperitônio em procedimentos laparoscópicos certamente tem influência direta sobre a intensidade e a duração da oligúria e dos eventuais danos histopatológicos que podem envolver o rim. A gravidade dessas alterações é dependente da duração do efeito isquêmico (LEE et al., 1999).

MIKI et al. (1997) comprovaram que pneumoperitônio acima de 60 minutos pode levar a transitória disfunção renal mesmo quando a pressão intra-abdominal é mantida ao redor de 12 mmHg.

O tempo de pneumoperitônio usado nesta pesquisa foi de duas e quatro horas, que corresponde à variação observada em diversas séries em que se pesquisou a nefrectomia laparoscópica em doadores vivos (JACOBS et al., 2004; RUIZ-DEYA et al., 2001). Com isso procurou-se estabelecer situações similares pelas quais passa o rim na vigência desse procedimento.

5.1.5 Período de Observação

No que diz respeito ao período de observação para análise funcional e morfológica do rim remanescente, dados da literatura revelam que as alterações estruturais e funcionais secundárias à hipertrofia renal compensatória em ratos estão

bem estabelecidas em 3 a 4 semanas (WEISSGARTEN et al., 1998). Além do crescimento renal, as alterações do volume glomerular tornam-se mais evidentes em 8 semanas, conforme relato de LAX et al. (1992). Tomando por base esses dados, optou-se neste estudo pela análise comparativa entre as observações bioquímicas e morfológicas encontradas no início do estudo e as encontradas 8 semanas após a realização do pneumoperitônio e da ablação renal.

5.2 ANÁLISE FUNCIONAL

5.2.1 Creatinina Sérica

A creatinina sérica fornece, de modo grosseiro, uma estimativa do grau de filtração glomerular, conforme descrito por SHEMESH et al. (1985). No entanto atua como parâmetro confiável na avaliação da função renal total e no acompanhamento da resposta compensatória do rim remanescente, e particularmente no prognóstico das doenças glomerulares (HAWASLI et al., 2003; WALSER, 1998).

Para avaliar a função renal optou-se por determinar a concentração sérica da creatinina, uma vez que a verificação de possíveis danos da função promovida pela diminuição do fluxo plasmático renal pode ser expressa pela alteração dos seus valores (FAGUNDES et al., 2000).

KIRSCH et al. (1994), estudando os efeitos do pneumoperitônio sobre a função renal em ratos, utilizaram uma PIA de 10 mmHg durante 2 e 4 horas e evidenciaram elevação dos níveis séricos de creatinina até 2 horas após a desinsuflação, com retorno aos valores basais após esse período.

GÜLER et al. (1998) relataram os efeitos agudos sobre o rim da insuflação de CO₂ no retroperitônio de coelhos e observaram significativa elevação dos níveis de creatinina sérica ao final do procedimento, elevação essa mais evidente no grupo submetido a 4 horas de insuflação quando comparado ao grupo de 2 horas. Esses dois grupos também apresentaram diferença significativa quando comparados ao

grupo controle, cujos animais não haviam sofrido insuflação do gás; porém não mostraram diferença significativa quando avaliados após 24 horas, ocasião em que os níveis séricos de creatinina tinham retornado ao normal em todos os animais.

Embora em indivíduos saudáveis essa temporária disfunção renal regrida completamente após o término do pneumoperitônio, há suspeita de que em pacientes com doenças renais preexistentes ou com reduzida massa renal as alterações inicialmente transitórias podem tornar-se permanentes (ARE et al., 2002; BEN-DAVID et al., 1999). Para dirimir esse questionamento, decidiu-se neste estudo analisar a função renal residual em ratos submetidos a nefrectomia unilateral e a dois pneumoperitônios.

Os níveis de creatinina sérica não apresentaram alteração significativa nos ratos submetidos a 2 horas (Grupo 2) e a 4 horas (Grupo 3) de pneumoperitônio, quando avaliados após 8 semanas e comparados aos valores iniciais por meio de estudo longitudinal – análise intragrupo. Essas observações estão conformes com as encontradas em HAZEBROECK et al. (2003), que, em estudo similar em ratos mas utilizando pressão intra-abdominal de 12 mmHg, também não constataram aumento dos níveis séricos de creatinina após 1 ano de observação. Tais resultados, portanto, confirmam o caráter transitório da disfunção renal mesmo em animais com rim único e depois de submetidos a sucessivos pneumoperitônios. No grupo Controle 1B, no entanto, quando comparados os valores da creatinina sérica no início do estudo (MPP1) aos do final do estudo (ME), observou-se significativo aumento (0,34 mg/dl x 0,40 mg/dl; $p=0,035$), porém sem significância clínica, já que esses valores se encontram dentro da variação de normalidade para o rato.

Em estudo semelhante, mas utilizando suínos como modelo animal, CISEK et al. (1998) realizaram cirurgia renal ablativa com o objetivo de mimetizar doença renal crônica. Depois de expostos os animais a PIA de 20 mmHg durante 6 horas, simulando um procedimento laparoscópico complexo, observaram acentuada queda de 80% no débito urinário, de 63% no ritmo de filtração glomerular e de 20% no fluxo

sangüíneo renal, os quais não retornaram aos seus níveis basais após 90 minutos da desinsuflação. No entanto, uma semana depois de realizado o teste, todos os valores retornaram ao normal, não se identificando nenhuma interferência da insuflação aguda e prolongada na função, mesmo diante da insuficiência renal preexistente.

Diferença estatisticamente significativa da creatinina sérica foi observada somente entre os animais do Grupo 3 quando comparados aos do Controle 1B (análise entre grupos). Os animais do Grupo 3, ou seja, os que haviam sido submetidos a insuflação abdominal durante 4 horas, apresentaram valores da creatinina sérica (mg/dl) maiores que os do grupo Controle ao longo do estudo (MPP1: $0,48 \times 0,34$, $p=0,002$; MPP2: $0,47 \times 0,38$, $p=0,012$; ME: $0,54 \times 0,40$, $p=0,010$). Esses valores, embora com níveis de significância, estão dentro dos padrões de normalidade para os ratos e não traduzem necessariamente algum grau de disfunção renal, já que essa variação foi observada mesmo antes da nefrectomia e da realização do pneumoperitônio.

Na análise comparativa da creatinina sérica entre o momento MPP2 e o ME, ou seja, depois de os animais terem sofrido 1 e 2 pneumoperitônios respectivamente, nenhuma diferença significativa foi encontrada nos grupos de estudo, constatando-se assim ausência do efeito cumulativo do pneumoperitônio sobre a função do rim remanescente em ratos.

WILLIAMS et al. (1986) avaliaram os efeitos da nefrectomia unilateral em doadores renais quanto a alterações da função renal. Observaram que, embora tivessem encontrado um aumento de 20% dos níveis séricos de creatinina e discreta proteinúria num período de 10 anos, tais alterações não estavam associadas à deterioração da função renal. Da mesma forma, HIGASHIHARA et al. (1990) e KASISKE et al. (1995), acompanhando pacientes por períodos prolongados em pesquisa semelhante, constataram um discreto aumento inicial da creatinina sérica, aumento esse que, no entanto, não progrediu com o tempo.

Pesquisas de dispositivos retratores da parede abdominal que não produzissem elevação da PIA mostraram não haver diferença significativa no débito urinário e na creatinina sérica em animais, comprovando-se dessa forma os efeitos deletérios do aumento da PIA na função renal (McDOUGALL et al., 1996; CHIU et al., 1996).

Avaliando os efeitos isquêmicos sobre o rim remanescente de ratos submetidos a nefrectomia unilateral, PAGTALUNAN et al. (1999) relatam que, após o clampeamento durante 30 minutos da artéria renal, observaram um aumento significativo da creatinina sérica, aumento que persistiu após 8 semanas ($0,9 \pm 0,2$ mg/dl para $1,7 \pm 0,5$ mg/dl, $p < 0,05$), o que indica uma incompleta recuperação da função renal após o evento isquêmico agudo. Embora os autores tenham provocado um insulto isquêmico maior aos causados pelo pneumoperitônio, deve-se considerar a probabilidade de que um aumento significativo e prolongado da PIA cause algum dano na função renal em animais portadores de rim único. Essas considerações, no entanto, não estão em acordo com os achados no presente estudo que não identificaram alterações significativas na função renal residual de ratos submetidos a sucessivos pneumoperitônios no mesmo período de observação.

5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA

Segundo estudos clínicos e experimentais, glomeruloesclerose com sinais clínicos de proteinúria e progressiva perda da função renal foi observada no curso de diferentes doenças glomerulares e túbulo-intersticiais, no diabetes melito e em situações em que havia redução da massa renal funcional, como a que ocorre após nefrectomia unilateral (BRENNER, 1985; LAFFERTY; BRENNER, 1990). Tais achados têm levado pesquisadores a rever as conseqüências da ablação renal em humanos, particularmente em doadores renais para transplante (ANDERSON et al., 1985).

Após a nefrectomia laparoscópica, o único rim do doador necessita não só recuperar-se dos efeitos do pneumoperitônio como também adaptar-se à sobrecarga de função (HAWASLI et al., 2003). Portanto, além do estado de adaptação por meio de hipertrofia compensatória à qual é submetido, esse rim sofre um risco adicional decorrente da isquemia causada pela elevada pressão intra-abdominal durante a laparoscopia (HAZEBROEK et al., 2003).

Por mais de um século investigadores têm estudado as conseqüências da redução da massa renal sobre a função do órgão, na esperança de melhor entender e desenvolver estratégias que previnam ou diminuam a progressão para falência renal. Uma redução do número de néfrons funcionantes leva a hipertrofia, a hipertensão e a hiperfiltração glomerular, com adicional perda de néfrons (ABDI et al., 1998a; ESPOSITO et al., 1999). Com a introdução da laparoscopia como método cirúrgico de escolha em muitos centros médicos, a agressão adicional do pneumoperitônio sobre o rim remanescente pode tornar-se clinicamente mais evidente, fazendo-se necessária uma avaliação histomorfológica criteriosa desse rim.

5.3.1 Hipertrofia Glomerular

Uma acurada análise da hipertrofia glomerular é possível com auxílio de diferentes métodos que, em conjunto, determinam o grau de envolvimento glomerular decorrente de uma agressão renal. Dentre tais métodos destaca-se a análise morfométrica quantitativa do diâmetro, da área e do volume glomerular (FRIES et al., 1989).

Redução de massa renal associada a aumento do diâmetro dos glomérulos remanescentes sugere hipertrofia compensatória. A hipertrofia pode ser o evento inicial do dano glomerular e apresenta relação direta com esclerose glomerular; e a injúria será tanto mais freqüente quanto maior for o diâmetro do glomérulo (NAGATA et al., 1992).

Em diversos estudos clínicos e experimentais, uma íntima correlação foi observada entre o aumento do volume e o grau de esclerose glomerular que se desenvolve em muitos modelos de doença ou em ablação renal (GROND et al., 1986a; FOGO et al., 1990; ABDI et al., 1998b). O efeito da sobrecarga resultante de alterações hemodinâmicas sobre os glomérulos remanescentes leva, inicialmente, a um fenômeno comum de adaptação que se traduz por hipertensão e aumento do volume do glomérulo (GRIFFIN et al., 2000). Porém não há evidência de que tal aumento seja fator de risco independente a influenciar a progressão da doença glomerular (FRIES et al., 1989; ABDI et al., 1998a). Segundo alguns autores, o volume glomerular pode ser usado como marcador em pacientes de alto risco ou de reduzida massa renal, para controle da função em longo prazo (GROND et al., 1986b; ZEIER et al., 1998).

A análise dos dados desta pesquisa referentes ao volume glomerular mostra diferença significativa somente entre os animais do Grupo 2 e do Grupo Controle 1A no início do experimento, imediatamente após o primeiro pneumoperitônio (MPP1). Valores maiores foram observados nos animais do Grupo 2 em relação ao Controle 1A ($1,09 \times 0,86 \mu\text{m}^3 \times 10^6$, $p=0,032$). Essa diferença também foi observada na medida do diâmetro ($125,12 \times 115,31 \mu\text{m}$, $p=0,023$) e da área glomerular ($9591,2 \times 8438,8 \mu\text{m}^3$, $p=0,035$) entre os mesmos grupos, o que reflete uma equivalência de valores entre esses animais. Esse fato pode ter origem na amostra dos glomérulos obtidos para estudo morfométrico, já que glomérulos corticais apresentam diâmetros menores quando comparados aos glomérulos justamedulares, conforme descrito por HACKBARTH et al. (1983).

Na análise morfológica do grau de hipertrofia glomerular por meio da área, volume e diâmetro glomerular realizada após 8 semanas, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os animais dos Grupos 2 e 3 quando comparados aos Grupos Controles ou mesmo no estudo longitudinal intragrupo. Esse fato corrobora dados da literatura como os relatados por PAGTALUNAN et al. (1999),

que não observaram alteração significativa no volume glomerular de ratos portadores de rim único submetido a lesão isquêmica por meio de clampeamento da artéria renal, quando comparados com ratos que somente sofreram nefrectomia unilateral no mesmo período de observação. Outros estudos, no entanto, têm demonstrado haver correlação entre ablação renal e hipertrofia glomerular e aumento do risco de esclerose glomerular (NEWBOLD et al., 1989; FOGO et al., 1990).

Relatos a respeito das alterações glomerulares seguidas de redução da massa renal são controversos. DEEN et al. (1974) não encontraram diferença significativa no diâmetro glomerular no rato submetido a nefrectomia unilateral após 28 dias. Porém ARATAKI, em 1926, já constatava aumento do volume glomerular na hipertrofia renal compensatória estabelecida; NYENGAARD (1993) observou discreto aumento de 8% no diâmetro glomerular, e GROND et al. (1986b) encontraram aumento de 23% no volume dos glomérulos em ratos submetidos a nefrectomia unilateral após o período de 1 ano de observação.

ABDI et al. (2003), estudando a ligação entre área glomerular e função renal em longo prazo em pacientes com substancial perda de massa renal, demonstraram haver forte correlação entre o aumento da área glomerular e o aumento da creatinina sérica, tornado mais evidente quando redução acima de 50% da massa renal foi realizada. Os autores sugerem que a análise morfométrica da área glomerular tem um valor preditivo da função renal em longo prazo em pacientes de risco ou com significativa redução da massa renal.

A relação entre área glomerular e níveis séricos de creatinina foi também constatada nesta pesquisa demonstrando uma estabilidade de seus valores, os quais não apresentaram variações significativas em ratos uninefrectomizados submetidos a consecutivos pneumoperitônios, quando avaliados após 8 semanas.

Embora alterações do volume glomerular no rim remanescente após nefrectomia unilateral tenham sido amplamente estudadas, conforme demonstrado

nos relatos citados anteriormente, não há na literatura consultada relato da ocorrência de tais alterações provocadas por pneumoperitônio. Parece clara a observação de que o aumento do volume glomerular possa constituir fator de risco, daí por que o emprego dessa análise no estudo dos efeitos do pneumoperitônio sobre o rim remanescente pode ser relevante.

No presente estudo, em que se utilizou o rato como modelo animal, não foram observadas alterações significativas que comprovem a presença de lesão renal secundária a variações do volume glomerular. Os três parâmetros utilizados para estimar o grau de hipertrofia glomerular se mantiveram equiparados ao longo do estudo, revelando desse modo uma correlação direta entre os mesmos.

5.3.2 Número de Células Mesangiais

O aumento do número de células mesangiais e/ou celularidade visto em rins remanescentes têm sido interpretados como sinais morfológicos iniciais de dano glomerular (PURKERSON et al., 1976). A hipercelularidade mesangial pode ser considerada fator de risco para o desenvolvimento de lesões renais quando há redução do número de néfrons funcionantes secundárias à ablação ou isquemia crônica (FOGO et al., 1990).

KLIEM et al., conforme relato publicado em 1996, observaram significativa proliferação de células mesangiais após ablação renal significativa. Essa proliferação celular parece contribuir para a progressão da esclerose glomerular em ratos com reduzida massa renal, principalmente quando mais de 50% do tecido é removido, conforme observado por FOGO e ICHIKAWA (1991).

Os achados histológicos desta pesquisa no que se refere ao número de células mesangiais revelaram apenas discreto aumento (12%) nos animais do Grupo 2 quando comparados ao Grupo Controle 1A, porém com nível de significância elevado ($p=0,033$), o que indica probabilidade limítrofe. Esse fato, no entanto, não foi observado no grupo de animais submetidos a um maior tempo de

exposição ao pneumoperitônio (Grupo 3), que por conseqüência, teria maior probabilidade de induzir proliferação celular em decorrência do efeito isquêmico maior. Possivelmente a significância estatística encontrada está relacionada à amostra dos glomérulos analisada neste grupo, visto que as variáveis de área, volume e diâmetro glomerular também foram maiores nesses animais.

Quando se realizou análise morfológica comparativa intragrupo, confrontando dados obtidos do primeiro rim com os dados do rim remanescente, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada, o que veio ao encontro dos relatos de SCHWARTZ et al. (1994). Esses autores, embora analisando rins remanescentes sem o emprego de pneumoperitônio, também não encontraram um componente hiperplásico, mas um aumento do volume celular e da matriz mesangial como resultado da hipertrofia glomerular compensatória após nefrectomia unilateral.

ESPOSITO et al. (1999) não observaram aumento no número de células glomerulares em ratos submetidos a nefrectomia unilateral após 8 semanas de observação, apesar de ter havido aumento no volume glomerular. Os autores relatam a dificuldade de diferenciar células endoteliais de células mesangiais do glomérulo, fato também constatado nesta pesquisa, pois os números relatados de células mesangiais foram valores estimados segundo os critérios de proporcionalidade descritos por JENETTE et al. (1998).

Na literatura pesquisada não foram encontrados dados relativos à associação entre hiper celularidade mesangial e efeito isquêmico provocado por pneumoperitônio em animais com reduzida massa renal, associação essa que pode constituir risco para o desenvolvimento de lesão renal. Porém, apesar de não ter sido comprovada essa possibilidade nesta pesquisa, estudos prospectivos são necessários para avaliar as conseqüências de tal relação.

5.3.3 Esclerose Glomerular

Observações relatadas por REMUZZI et al. (1995) indicam que a extensão da esclerose glomerular em ratos e humanos é qualitativa e quantitativamente comparável se igual proporção de parênquima renal for removida. Esses achados assinalam, portanto, que o rato é um modelo válido para o estudo da lesão renal secundária à ablação. No entanto, apesar de análoga a fisiopatologia clínica de humanos e ratos, permanece incerto o grau de comprometimento renal seguido de ablação e aumento da PIA.

GROND et al. (1982) e PURKERSON et al. (1976), analisando histologicamente o rim remanescente de ratos submetidos a nefrectomia unilateral, observaram que esclerose glomerular estava presente em 10% dos animais após um período de 8 semanas de observação. Os autores concluíram, portanto, que a esclerose pode também se desenvolver no rim remanescente de ratos após remoção de apenas 50% da massa renal.

Nesta série não foi encontrada nenhuma evidência de esclerose glomerular focal ou segmentar nos rins avaliados, independentemente do tempo de pneumoperitônio a que os animais foram expostos. Análise histomorfológica dos rins remanescentes comprovou que prolongados e sucessivos pneumoperitônios não apresentam relação direta com dano glomerular em ratos portadores de rim único. Esses achados estão conformes com relatos de investigações sobre os efeitos do pneumoperitônio na morfologia renal.

LEE et al. (1999) demonstraram que um prolongado período de pneumoperitônio com 15 mmHg de PIA não causa alteração histológica em rins de ratos após 3 meses de observação. Os efeitos nesse caso foram avaliados em ambos os rins, diferentemente do modelo empregado no presente estudo, em que foram pesquisados animais portadores de rim único adquirido, submetido a subsequente exposição a pneumoperitônio.

Relatos da avaliação dos efeitos agudos (HAZEBROEK et al., 2002c) e crônicos (HAZEBROEK et al., 2003) do pneumoperitônio sobre a histomorfologia renal em ratos demonstram que, após um período de observação de 7 dias e 1 ano respectivamente, nenhum efeito deletério do aumento da PIA sobre o rim remanescente decorrente da insuflação de gás abdominal foi encontrado.

Este estudo demonstra, portanto, que a função e a morfologia renal de ratos submetidos a nefrectomia unilateral não são significativamente influenciadas por sucessivos e prolongados períodos de insuflação abdominal com CO₂ quando comparados com o Grupo Controle de animais que não tiveram aumento da PIA. Os achados bioquímicos foram sustentados histologicamente nessa análise.

Embora os efeitos isquêmicos do pneumoperitônio sobre a função renal não estejam ainda totalmente esclarecidos, esse fato deve ser considerado na realização de cirurgias laparoscópicas em pacientes com função renal limítrofe. São necessários estudos adicionais para elucidar os reais mecanismos implicados na disfunção renal decorrente do aumento da PIA conseqüente ao pneumoperitônio.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem as seguintes conclusões:

- 1) a avaliação da função renal residual por meio da creatinina sérica não evidencia alteração de significância clínica;
- 2) a análise morfológica do rim remanescente não revela alteração histológica sugestiva de dano renal.

REFERÊNCIAS

- ABDI, R.; SLAKEY, D.; KITTUR, D.; BURDICK, J., RACUSEN, L.C . Baseline glomerular size as a predictor of function in human renal transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v. 66, n. 3, p. 329-333, 1998a.
- ABDI, R.; SLAKEY, D.; KITTUR, D.; RACUSEN, L.C. Heterogeneity of glomerular size in normal donor kidneys: impact of race. **Am. J. Kidney Dis.**, Philadelphia, v. 32, p. 43, 1998b.
- ABDI, R.; DONG, V.M.; RUBEL, J.R.; KITTUR, D.; MARSHALL, F.; RACUSEN, L.C. Correlation between glomerular size and long-term renal function in patients with substantial loss of renal mass. **J. Urol.**, Baltimore, v. 170, n. 7, p. 42-44, 2003.
- ADAMS, J.B.; MOORE, R.G.; MICALI, S.; MARCO, A.P.; KAVOUSSI, L.R. Laparoscopic genitourinary surgery utilizing 20-mmHg intra-abdominal pressure. **J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech.**, Larchmont, v. 9, n. 2, p. 131-134, 1999.
- AKAOKA, K.; WHITE, R.H.; RAAFAT, F. Human glomerular growth during childhood: a morphometric study. **J. Pathol.**, Chichester, v.173, n. 3, p.261-68, 1994.
- ALMEIDA, A.V.; GANEM, E.M. Efeitos do pneumoperitônio sobre a hemodinâmica e função renal de cães ventilados com volume e pressão controlados. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, Campinas, v. 54, n. 3, p. 343-60, 2004.
- ANDERSON, S.; MEYER, T.W.; BRENNER, B.M. The role of haemodynamic factors in the initiation and progression of renal disease. **J. Urol.**, Baltimore, v. 133, p. 363-368, 1985.
- ARATAKI, M. Experimental researches on the compensatory enlargement of the surviving kidney after unilateral nephrectomy (albino rat) **Am. J. Anat.**, Philadelphia, v.36, p.437-450, 1926.
- ARE, C.; KUTKA, M.; TALAMINI, M.; HARDACRE, J.; MENDOZA-SAGAON, M.; HANLEY, E.; TOUNG, T. Effect of laparoscopic antireflux surgery upon renal blood flow. **Am. J. Surg.**, Belle Mead, v. 183, p. 419-423, 2002.
- BANNENBERG, J.J.G.; RADEMAKER, B.M.P.; FROELING, F.M.J.A.; MEIJER, D.W. Hemodynamics during laparoscopic extra-and intraperitoneal insufflation. **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, n. 9, p. 911-914, 1997.
- BEN-DAVID, B.; CROITORU, M.; GAITINI, L. Acute renal failure following laparoscopic cholecystectomy: a case report. **J. Clin. Anesth.**, New York, v. 11, n. 6, p. 486-489, 1999.
- BERGUER, R.; GUTT, C.; STIEGMANN, G.V. Laparoscopic surgery in the rat. **Surg. Endosc.**, New York, v. 7, n. 4, p. 345-347, 1993.

BERGUER, R.; CORNELIUS, T.; DALTON, M. The optimum pneumoperitoneum pressure for laparoscopic surgery in the rat model. *Surg. Endosc.*, New York, v. 11, n. 9, p. 915-918, 1997.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; GRECA, F.H.; IOSHII, S.O.; NOGUEIRA, G.F.; TAWIL, I.I.E.; LONGHI, P. Alterações histopatológicas e funcionais renais resultantes do aumento da pressão intra-abdominal em ratos. *Acta Cir. Bras.*, São Paulo, v. 16, s.2, p. 66-70, 2001.

BRADLEY, S.E.; BRADLEY, G.P. The effect of increased intra-abdominal pressures on renal function in man. *J. Clin. Invest.*, New York, v. 26, n. 5, p. 1010-1022. 1947.

BRASESCO, O. E.; SZOMSTEIN, S.; MAILAPUR, R.V.; ZUNDEL, N.; ROSENTHAL, R.J. La patofisiología del pneumoperitônio: diez años de estudios en busca de una teoría unificadora. *Rev. Mexicana Cir. End.*, D.F., Mexico, v. 3, n. 3, p. 101-108, 2002.

BRENNER, B.M. Nephron adaptation to renal injury or ablation. *Am. J. Physiol.*, Bethesda, v. 249, n. 3, pt. 2, p. 324-337, 1985.

CARRY, P.Y.; BANSSILON, V. Intra-abdominal pressure. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.*, Paris, v. 13, n. 3, p. 381-99, 1994.

CASTILHO, L.N. Cirurgia videolaparoscópica In: BENDHACK, D.A.; DAMIÃO, R. (Ed.). *Guia prático de urologia*. São Paulo: BG Cultural, 1999. p.365-368.

CHANG, D.T.; KIRSCH, A.J.; SAWCZUK, I.S. Oliguria during laparoscopic surgery. *J. Endourol.*, New York, v. 8, n. 5, p. 349-352, 1994.

CHIU, A.W.; AZADZOI, K.M.; HATZICHRISTOU, D.G.; SIROKY, M.B.; KRANE, R.J.; BABAYAN, R.K. Effects of intra-abdominal pressure on renal tissue perfusion during laparoscopy. *J. Endourol.*, New York, v. 8, n. 2, p. 99-103, 1994.

CHIU, A.W.; CHANG, L.S.; BIRKETT, D.H.; BABAYAN, R.K. The impact of pneumoperitoneum, pneumoretroperitoneum and gasless laparoscopy on the systemic and renal hemodynamics. *J. Am. Coll. Surg.*, New York, v. 181, p. 397-406, 1995.

CHIU, A.W.; CHANG, L.S.; BIRKETT, D.H.; BABAYAN, R.K. Changes in urinary output and electrolytes during gaseous and gasless laparoscopy. *Urol. Res.*, Berlin, v. 24, n. 6, p. 361-366, 1996.

CISEK, L.J.; GOBET, R.M.; PETERS, C.A. Pneumoperitoneum produces reversible renal dysfunction in animals with normal and chronically reduced renal function. *J. Endourol.*, New York, v. 12, n. 2, p. 95-100, Apr. 1998.

CLAYMAN, R.V.; KAVOUSSI, L.R.; SOPER, N.J.; DIERKS, S.M.; MERETYK, S.; DARCY, M.D.; ROEMER, F.D.; PINGLETON, E.D.; THOMSON, P.G.; LONG, S.R. Laparoscopic nephrectomy: initial case report. *J. Urol.*, Baltimore, v. 146, p. 278-282, 1991.

CLEVA, R.R.; SILVA, F.P.; ZILBERSTEIN, B.; MACHADO, D.J.B. Acute renal failure due to abdominal compartment syndrome: report on four cases and literature review. **Rev. Hosp. Clin.**, São Paulo, v. 56, n. 4, p. 123-130, 2001.

DANILEWICZ, M.; WAGROWSKA-DANILEWICZ, M. Diffuse idiopathic mesangial proliferative glomerulonephritis in re-biopsied patients: a quantitative study. **Med. Sci.Monit.**, New York, v.4, n.6, p.955-59, 1998.

DEEN, W.M; MADDOX, D.A.; ROBERTSON, C.R.; BRENNER, B. M. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. 7: Response to reduce renal mass **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v.227, n.3, p.556-562, 1974.

DOLGOR, B.; KITANO, S.; YOSHIDA, T.; BANDO, T.; NINOMIYA, K.; MATSUMOTO, T. Vasopressin antagonist improves renal function in a rat model of pneumoperitoneum. **J. Surg. Res.**, New York, v. 79, n. 2, p. 109-114, 1998.

DUALÉ, C.; BOLANDARD, F.; DUBAND, P.; MISSION, J.P.; SCHOEFFLER, P. Conséquences physiopathologiques de la chirurgie coelioscopique. **Ann. Chir.**, Paris, v. 126, n. 6, p. 508-514, jul. 2001.

DUNN, M.D.; McDOUGALL, E.M. Renal physiology: laparoscopic considerations. **Urol. Cl. North. Am.**, Philadelphia, v. 27, n. 4, p. 609-614, 2000.

ESPOSITO, C.; HE, C.; STRIKER, G.E.; ZALUPS,R.K.; STRIKER, L.J. Nature and severity of the glomerular response to nephron reduction is strain-dependent in mice. **Am. J. Pathol.**, Bethesda, v. 154, n. 3, p. 891-897, Mar. 1999.

FAGUNDES, M.A.V.; NIGRO, A.J.T.; MONTERO, E.F.S.; NOVO, N.F.; JULIANO, Y. Efeitos do pneumoperitônio no rato. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 15, s. 1, p. 39 , 2000.

FOGO, A.; ICHIKAWA, L. Evidence for a pathologic between glomerular hypertrophy and sclerosis. **Am. J. Kidney Dis.**, Philadelphia, v. 17, n. 6, p. 666-669, 1991.

FOGO, A.; HAWKINS, E.P.; BERRY, P.L.; GLICK, A.D.; CHIANG, M.L.; MacDONELL, R.C.; ICHIKAWA, I. Glomerular hypertrophy in minimal change disease predicts subsequent progression to focal glomerular sclerosis. **Kidney Int.**, Cambridge, v. 38, n. 1, p. 115-123, 1990.

FRIES, J.W.U.; SANDSTROM, D.J.; MEYER, T.W.; RENNKE, H.G. Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. **Lab. Invest.**, Baltimore, v. 60, n. 2, p. 205-218, 1989.

GILL, I.S.; KERBL, K.; MERANEY, A.M.; CLAYMAN, R.V. Basics of laparoscopic urologic surgery. In: WALSH, P.C.; RETIK, A.B.; VAUGHAN JR, E. D.; WEIN, A.J. (ed.). **Campbell's urology**. 8.ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2003. cap.100.

GOLDENBERG, A.; LOBO, E.J.; MARCONDES, W.; LOUZADA, M.; BARBOSA, C.D.L. Proposição de videolaparoscopia em ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 219-220, 1997.

GRIFFIN, K.A.; PICKEN, M.M.; CHURCHILL, M.; CHURCHILL, P.; BIDANI, A.K. Functional and structural correlates of glomerulosclerosis after renal mass reduction in the rat. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v. 11, n. 3, p. 497-506, Mar. 2000.

GROND, J.; SCHILTHUIS, M.S.; KOUDSTAAL, J.; ELEMA, J. D. Mesangial function and glomerular sclerosis in rats after unilateral nephrectomy. **Kidney Int.**, New York, v.22, n.4, p.338-343, 1982.

GROND, J., BEUKERS, J.Y.B.; SCHILTHUIS, M.S.; WEENING, J.J.; ELEMA, J.D. Analysis of renal structural and functional features in two rat strains with a different susceptibility to glomerular sclerosis. **Lab. Invest.**, Baltimore, v. 54, n. 1, p. 77-83, 1986a.

GROND, J.; VAN GOOR, H.; ERKELENS, W.; ELEMA, J.D. Glomerular sclerosis in Wistar rats: analysis of its variable occurrence after unilateral nephrectomy. **Br. J. Exp. Pathol.**, London, v. 67, n. 4, p. 473-479, 1986b.

GÜLER, C.; SADE, M.D.; KIRKALI, Z. Renal effects of carbon dioxide insufflation in rabbit pneumoperitoneum model. **J. Endourol.**, New York, v. 12, n. 4, p. 367-370, 1998.

GUNNING, J.E. The history of laparoscopy. **J.Reprod.Med.** St. Louis, v.12, n.6, p.222-226, 1974.

HACKBARTH, H.; BÜTTNER, D.; JARCK, D.; POTHMANN, M.; MESSOW, C.; GÄRTNER, K. Distribution of glomeruli in the renal cortex of Munich Wistar Fromter rats. **Ren. Physiol.**, New York, v. 6, n. 2, p. 63-71, 1983.

HAJAR, N.; REPTA, J.C.D.; CANAN JUNIOR, L.W. Ação do pneumoperitônio com dióxido de carbono na translocação bacteriana em ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 181-188, 2002.

HARMAN, P.K.; KRON, I.L.; McLACHLAN, H.; FREEDLENDER, A.E.; NOLAN, S.P. Elevated intra-abdominal pressure and renal function. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 196, n. 5, p. 594-597, 1982.

HAWASLI, A.; OH, H.; SCHERVISH, E.; FRONTERA, R.; GONSHEROVA, I.; KHOURY, H. The effect of pneumoperitoneum on kidney function in laparoscopic donor nephrectomy. **Am. Surg.**, Philadelphia, v. 69, n. 4, p. 300-303, 2003.

HAZEBROEK, E.J.; CAPPEL, R.N.; GOMMERS, D.; VAN GELDER, T.; WEIMAR, W.; STEYERBERG, E.; BONJER, H.J.; IJZERMANS, J. Antidiuretic hormone release during laparoscopic donor nephrectomy. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 137, n. 5, p. 600-604, 2002a.

HAZEBROEK, E.J.; GOMMERS, D.; SCHREVE, M.A.; VAN GELDER, T.; ROODNAT, J.I.; WEIMAR, W.; BONJER, H.J.; IJZERMANS, J.N.M. Impact of intraoperative donor management on short-term renal function after laparoscopic donor nephrectomy. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 236, n. 1, p. 127-132, 2002b.

HAZEBROEK, E.J.; de BRUIN, R.W.F.; BOUVY, N.D.; VAN DUIKEREN, S.; BONTHUIS, F.; MARQUET, R.L.; BAJEMA, I.M.; HAYES, D.P.; IJZERMANS, J.N.M.; BONJER, H.J. Short-term impact of carbon dioxide, helium and gasless laparoscopic donor nephrectomy on renal function and histomorphology in donor and recipient. **Surg. Endosc.**, New York, v. 16, n. 2, p. 245-251, 2002c.

HAZEBROEK, E.J.; HAITSMAN, J.J.; LACHMANN, B.; STEYERBERG, E.W.; de BRUIN, R.W.F.; BOUVY, N.D.; BONJER, H.J. Impact of carbon dioxide and helium insufflation on cardiorespiratory function during prolonged pneumoperitoneum in an experimental rat model. **Surg. Endosc.**, New York, v. 16, n. 7, p. 1073-1078, 2002d.

HAZEBROEK, E.J.; de BRUIN, R.W.F.; BOUVY, N.D.; MARQUET, R.L.; BONTHUIS, F. Long-term impact of pneumoperitoneum used for laparoscopic donor nephrectomy on renal function and histomorphology in donor and recipients rats. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 237, n. 3, p. 351-357, 2003.

HEDICAN, S.P. Laparoscopy in urology. **Surg. Clin. North. Am.**, New York, v. 80, n. 5, p. 1465-1485, 2000.

HIGASHIHARA, E.; HORIE, S.; TAKEUCHI, T.; NUTAHARA, K.; ASO, Y. Long-term consequence of nephrectomy. **J. Urol.**, Baltimore, v. 143, p. 239-243, 1990.

HO, H.S.; GUNTHER, R.A.; WOLFE, B.M. Intraperitoneal carbon dioxide insufflation and cardiopulmonary functions. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 127, n. 8, p. 928-933, 1992.

HUNTER, J.G. Laparoscopic pneumoperitoneum: the abdominal compartment syndrome revisited. **J. Am. Coll. Surg.**, New York, v. 181, n. 5, p. 469-470, 1995.

IRGAU, I.; ABDEL-MISIH, R.Z.; FULDA, G.J. Pathophysiological effects of laparoscopy: current knowledge. **Del. Med. J.**, Wilmington, v. 69, n. 10, p. 501-509, 1997.

IWASE, K.; TAKENAKA, H.; ISHIZAKA, T.; OHATA, T.; OSHIMA, S.; SAKAGUSHI, K. Serial changes in renal function during laparoscopic cholecystectomy. **Eur. Surg. Res.**, Basel, v. 25, n. 4, p. 203-212, 1993.

JACOBS, S.C.; CHO, E.; FOSTER, C.; LIAO, P.; BARTLETT, S.T. Laparoscopic donor nephrectomy: the university of Maryland 6-year experience. **J. Urol.**, Baltimore, v. 171, n. 1, p. 47-51, 2004.

JENETTE, J.C.; OLSON, J.L.; SCHWARTZ, M.M.; SILVA, F.G. **Heptinstall's pathology of the kidney**. 5. ed. Lippincott- Raven, Philadelphia, v. 1, 1998.

JUNGHANS, T.; BÖHM, B.; GRÜNDEL, K.; SCHWENK, W.; MÜLLER, J.M. Does pneumoperitoneum with different gases, body positions, and intraperitoneal pressures influence renal and hepatic blood flow? **Surgery**, St. Louis, v. 121, n. 2, p. 206-211, Feb. 1997.

KASISKE, B.L.; MA, J.Z.; LOUIS, T.A.; SWAN, S.K. Long-term effects of reduced renal mass in humans. **Kidney. Int.**, Cambridge, v. 48, p. 814-819, 1995.

KIRSCH, A.J.; HENSLE, T.W.; CHANG, D.T.; KAYTON, M.L.; OLSSON, C.A.; SAWCZUK, I.S. Renal effects of CO₂ insufflation: oliguria and acute renal dysfunction in a rat pneumoperitoneum model. **Urology**, Belle Mead, v. 43, n. 4, p. 453-459, Apr. 1994.

KLIEM, V.; JOHNSON, R.J.; ALPERS, C.E.; YOSHIMURA, A.; COUSER, W.G.; KOCH, K.M.; FLOEGE, J. Mechanisms involved in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis in 5/6-nephrectomized rats. **Kidney Int.**, New York, v.49, n.3, p.666-678, 1996.

KUNTZ, C.; WUNSCH, A.; BÖDEKER, C.; BAY, F.; ROSCH, R.; WINDELER, J.; HERFARTH, C. Effect of pressure and gas type on intrabdominal, subcutaneous and blood pH in laparoscopy. **Surg. Endosc.**, New York, v. 14, n. 4, p. 367-371, Apr. 2000.

LAFFERTY, H.M.; BRENNER, B.M. Are glomerular hypertension and hypertrophy independent risk factors for progression of renal disease? **Semin. Nephrol.**, Philadelphia, v. 10, n. 3, p. 294-304, 1990.

LAX, D.S; BENSTEIN, J.A.; TOLBERT, E.; DWORKIN, L.D. Effects of salt restriction on renal growth and glomerular injury in rats with remnant kidneys. **Kidney Int.**, New York, v.41, n.6, p.1527-1534, 1992.

LE ROITH, D.; BARK, H.; NYSKA, M.; GLICK, S.M. The effect of abdominal pressure on plasma antidiuretic hormone levels in dog. **J. Surg. Res.**, New York, v. 32, p. 65-69, 1982.

LEE, B.R; CADEDDU, J.A.; MOLNAR-NADASDY, G.; ENRIQUEZ, D.; NADASDY, T.; KAVOUSSI, L.R.; RATNER, L.E. Chronic effect of pneumoperitoneum on renal histology. **J. Endourol.**, New York, v. 13, n. 4, p. 279-282, 1999.

LINDBERG, F.; BERGQVIST, D.; BJÖRCK, M.; RASMUSSEN, I. Renal hemodynamics during carbon dioxide pneumoperitoneum: an experimental study in pigs. **Surg. Endosc.**, New York, v. 17, n. 3, p. 480-484, 2003.

LINDSTRÖM, P.; WADSTRÖM, J.; OLLERSTAM, A.; JOHNSON, C.; PERSSON, E.G. Effects of increased intra-abdominal pressure and volume expansion on renal function in the rat. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 18, n. 11, p. 2269-2277, 2003.

LOEB, W.F. Clinical biochemistry of laboratory rodents and rabbits. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animal**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997, p. 845-855.

LONDON, E.T.; HO, H.S.; NEUHAUS, A.M.C.; WOLFE, B.M.; RUDICH, S.M.; PEREZ, R.V. Effect of intravascular volume expansion on renal function during prolonged CO₂ pneumoperitoneum. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 231, n. 2, p. 195-201, 2000.

McDOUGALL, E.M.; MONK, T.G.; WOLF JR, J.S.; HICKS, M.; CLAYMAN, R.V.; GARDNER, S.; HUMPHREY, P.A.; SHARP, T.; MARTIN, K. The effect of prolonged pneumoperitoneum on renal function in an animal model. **J. Am. Coll. Surg.**, New York, v. 182, n. 4, p. 317-328, Apr. 1996.

MERGH, A.C.M.; OLIVEIRA, C.H.S. Alterações pulmonares na cirurgia videolaparoscópica. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 4, p. 289-294, 1996.

MICALI, S.; SILVER, R.I.; KAUFMAN, H.S.; DOUGLAS, V.D.; MARLEY, G.M.; PARTIN, A.W.; MOORE, R.G.; KAVOUSSI, L.R.; DOCIMO, S.G. Measurement of urinary N-acetyl-B-D-glucosaminidase to assess renal ischemia during laparoscopic operations. **Surg. Endosc.**, New York, v. 13, n. 5, p. 503-506, 1999.

MIKI, Y.; IWASE, K.; KAMIKE, W.; TANIGUCHI, E.; SAKAGUCHI, K.; SUMIMURA, J.; MATSUDA, H.; NAGAI, I. Laparoscopic cholecystectomy and time-course changes in renal function. **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, n. 8, p. 838-841, 1997.

MITRE, A.I.; ARAP, S. Histórico. In: CASTILHO, L.N. (Ed.). **Laparoscopia urológica**. Campinas: LPC Comunicações, 2000. p.1-5.

MOREIRA, M.B.; MONTERO, E.F.S.; FAGUNDES, D.J.; CHIDA, V.V.; RAMALHO, C.E.B.; JULIANO, Y. A função renal de ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao pneumoperitônio. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 168-180, 2002.

MORGAN, W.R.; ZINCKE, H. Progression and survival after renal-conserving surgery for renal cell carcinoma: experience in 104 patients and extended followup. **J. Urol.**, Baltimore, v. 144, n. 4, p. 852-858, 1990.

NAGATA, M.; SCHÄRER, K.; KRIZ, W. Glomerular damage after uninephrectomy in young rats: hypertrophy and distortion of capillary architecture. **Kidney Int.**, New York, v.42, n.6:2, p.136-147, 1992.

NEUDECKER, J.; SAUERLAND, S.; NEUGEBAUER, E. The EAES clinical practice guideline on the pneumoperitoneum for laparoscopic surgery. In: **9º international congress of the european association for endoscopic surgery (EAES)**, Maastricht, Jun. 2001.

NEWBOLD, K.M.; HOWIE, A.J.; GIRLING, A.J.; KIZAKI, T.; BRYAN, R.L.; CAREY, M.P. A simple method for assessment of glomerular size and its use in the 3 studies of kidneys in acromegaly and compensatory renal enlargement. **J. Pathol.**, Chichester, v. 158, n. 2, p. 139-146, Jun. 1989.

NGUYEN, N.T.; PEREZ, R.V.; FLEMING, N.; RIVERS, R.; WOLFE, B. Effect of prolonged pneumoperitoneum on intraoperative urine output during laparoscopic gastric bypass. **J. Am. Col. Surg.**, New York, v. 195, n. 4, p. 476-83, 2002.

NISHIO, S.; TAKEDA, H.; YOKOYAMA, M. Changes in urinary output during laparoscopic adrenalectomy. **Br. J. Urol.**, Oxford, v. 83, p. 944-47, 1999.

NYENGAARD, J.R. Number and dimensions of rat glomerular capillaries in normal development and after nephrectomy. **Kidney Int.**, New York, v. 43, n.5, p.1049-1057, 1993.

O'MALLEY, C.; CUNNINGHAM, A.J. Physiologic changes during laparoscopy. **Anesth. Cl. N. Am.**, Philadelphia, v. 19, n. 1, p. 1-19, 2001.

PAGTALUNAN, M.E.; OLSON, J.L.; TILNEY, N.L.; MEYER, T.W. Late consequences of acute ischemic injury to a solitary kidney. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v. 10, n. 2, p. 366-373, 1999.

PAGTALUNAN, M.E.; DRACHMAN, J.A.; MEYER, T.W. Methods for estimating the volume of individual glomeruli. **Kidney Int.**, New York, v. 57, n. 6, p. 2644-2649, Jun 2000.

PÉREZ, J.; TAURÁ, P.; RUEDA, J.; BALUST, J.; ANGLADA, T.; BELTRAN, J.; LACY, A.M.; GARCIA-VALDECASAS, J.C. Role of dopamine in renal dysfunction during laparoscopic surgery. **Surg. Endosc.**, New York, v. 16, n. 9, p. 1297-1301, 2002.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H.(eds.) **Laboratory methods in histotechnology**. Washington, D.C. American Registry of Pathology, 1994.

PURKERSON, M.L.; HOFFSTEN, P.E.; KLAHR, S. Pathogenesis of the glomerulopathy with renal infarction in rats. **Kidney Int.**, New York, v. 9, n. 5, p.407-417, 1976.

RATNER, L.E.; CISEK, L.J.; MOORE, R.G.; CIGARROA, F.G.; KAUFMAN, H.S.; KAVOUSSI, L.R. Laparoscopic living donor nephrectomy. **Transplantation**, Baltimore, v. 60, p. 1047-1049, 1995.

REMUZZI, A.; MAZERSKA, M.; GEPHARDT, G.N.; NOVICK, A.C.; BRENNER, B.M.; REMUZZI, G. Three-dimensional analysis of glomerular morphology in patients with subtotal nephrectomy. **Kidney Int.**, New York, v.48, n.1, p.155-162, 1995.

RICHARDS, W.O.; SCOVILL, W.; SHIN, B.; REED, W. (78) Acute renal failure associated with increased intra-abdominal pressure. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 197, n. 2, p. 183-187, 1983.

ROSIN, D.; BRASESCO, O.; VARELA, J.; SABER, A.A.; YOU, S.; ROSENTHAL, R.J.; COHN, S.M. Low-pressure laparoscopy may ameliorate intracranial hypertension and renal hypoperfusion. **J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech.**, v. 12, n. 1, p. 15-19, 2002.

RUIZ-DEYA, G.; CHENG, S.; PALMER, E.; THOMAS, R.; SLAKEY, D. Open donor, laparoscopic donor and hand assisted laparoscopic donor nephrectomy: a comparison of outcomes. **J.Urol.**, Baltimore, v. 166, n.10, p. 1270-74, 2001.

SCHÄFER, M.; SÄGESSER, H.; REICHEN, J.; KRÄHENBÜHL, L. Alterations in hemodynamics and hepatic and splanchnic circulation during laparoscopy in rats. **Surg. Endosc.**, New York, v. 15, n. 10, p. 1197-1201, 2001a.

SCHÄFER, M.; KRÄHENBÜHL, L. Effect of laparoscopy on intra-abdominal blood flow. **Surgery**, St. Louis, v. 129, n. 4, p. 385-389, 2001b.

SHEMESH, O.; GOLBETZ, H.; KRISS, J.P.; MYERS, B.D. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. **Kidney Int.**, New York, v.28, n.5, p.830-838, 1985.

SCHWARTZ, M.M.; EVANS, J.; BIDANI, A.K. The mesangium in the long-term remnant kidney model. **J. Lab. Clin. Med.**, St. Louis, v.124, n.5, p.644-651, 1994.

STELLATO, T.A. History of laparoscopic surgery. **Surg. Clin. North Am.**, New York, v. 72, n. 5, p. 997-1002, 1992.

THORINGTON, J.M.; SCHMIDT, C.F. A study of urinary output and blood-pressure changes resulting in experimental ascites. **Am. J. Med. Sci.**, v.165, p.880-890, 1923.

WALSER, M. Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. **Am. J. Kidney Dis.**, Philadelphia, v. 32, n. 1, p. 23-31, 1998.

WAYNFORTH, H.B.; FLECKNELL, P.A. **Experimental and surgical technique in the rat**. 2. Ed. San Diego: Academic Press, 1992.

WEISSGARTEN, J.; MODAI, D.; COHN, M.; BERMAN, S.; AVERBUKH, Z. The proliferative responsiveness of mesangial cells to postnephrectomy serum declines progressively with time elapsing after contralateral nephrectomy. **Nephron**, Basel, v.78, n.2, p.212-214, 1998.

WILLIAMS, S.L.; OLER, J.; JORKASKI, D.K. Long-term renal function in kidney donors: a comparison of donors and their siblings. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 105, n. 1, p. 1-8, 1986.

ZEIER, M.; SCHÖNHERR, R.; AMANN, K.; RITZ, E. Effects of testosterone on glomerular growth after uninephrectomy. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 13, p. 2234-2240, 1998.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - DADOS GERAIS E DE BIOQUÍMICA

TABELA 4 - CREATININA SÉRICA (mg/dl) / PESO (g)

Nº	GRUPO	MPP1	MPP2 4 sem	ME 8 sem	PESO	Nº	GRUPO	MPP1	MPP2 4 sem	ME 8 sem	PESO
1	1A	0,50	0,49	0,54	300	28	1B	0,37	0,30	0,46	274
2	1B	0,35	0,42	0,48	310	29	3	0,37	0,43	0,78	286
3	2	0,32	0,46	0,48	308	30	1A	0,49	0,46	0,49	253
4	2	0,70	0,56	0,46	288	31	2	0,48	0,52	0,76	272
5	3	0,38	0,40	0,38	282	32	2	0,24	0,38	0,73	274
6	3	0,64	0,41	0,37	282	33	3	0,49	0,60	0,64	263
7	1B	0,38	0,38	0,41	298	34	3	0,65	0,58	0,53	281
8	3	0,42	0,40	0,42	254	35	2	0,48	0,61	0,59	284
9	2	0,45	0,50	0,52	252	36	2	0,44	0,42	0,51	254
10	3	0,48	0,46	0,54	254	37	1A	0,45	0,41	0,56	269
11	2	0,34	0,38	0,45	264	38	1A	0,30	0,43	0,30	284
12	2	0,31	0,37	0,35	292	39	1A	0,40	0,38	0,36	254
13	3	0,39	0,42	0,79	262	40	1B	0,30	0,49	0,50	264
14	2	0,38	0,54	0,46	250	41	1B	0,25	0,30	0,40	242
15	1A	0,36	0,50	0,46	252	42	1A	0,30	0,30	0,51	264
16	1B	0,35	0,38	0,38	260	43	1B	0,28	0,31	0,20	240
17	1A	0,40	0,37	0,42	290	44	1A	0,36	0,40	0,34	263
18	1B	0,41	0,43	0,48	302	45	1A	0,37	0,40	0,40	240
19	3	0,72	0,56	0,54	337	46	1B	0,35	0,32	0,29	240
21	3	0,35	0,49	0,48	350	47	1A	0,51	0,54	0,45	242
22	3	0,40	0,39	0,43	299	48	1B	0,24	0,30	0,30	264
24	2	0,28	0,26	0,20	340	49	1B	0,40	0,37	0,50	284
26	2	0,40	0,50	0,46	347	50	1A	0,29	0,28	0,25	246
27	3	0,50	0,49	0,59	267	51	1B	0,39	0,54	0,37	276

APÊNDICE 2 - RESULTADOS ESTATÍSTICOS

TABELA 5 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO PESO DOS RATOS NOS GRUPOS EM ESTUDO

PESO (g)	Nº	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO
Controle A (2h)	12	263,1	19,4	240,0	300,0
Controle B (4h)	12	271,2	24,1	240,0	310,0
Grupo 2 (2h)	12	285,4	32,3	250,0	347,0
Grupo 3 (4h)	12	284,8	30,8	254,0	350,0
TOTAL GERAL	48	276,1	27,9	240,0	350,0

Controle A x Grupo2 → p = 0,052; Controle B x Grupo 3 → p = 0,241; Grupo 2 x Grupo 3 → p = 0,963 (t de Student).

TABELA 6 - ANÁLISE COMPARATIVA DA CREATININA SÉRICA ENTRE GRUPOS DE ESTUDO

DADOS	VALOR DE p	TESTE APLICADO	SIGNIFICÂNCIA
MPP1			
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,812	t de Student	NS
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,002	"	S
Grupo 2 x Grupo 3	0,117	t de Student	NS
MPP2 (4 Semanas)			
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,190	t de Student	NS
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,012	"	S
Grupo 2 x Grupo 3	0,789	t de Student	NS
ME (8 Semanas)			
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,138	t de Student	NS
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,010	"	S
Grupo 2 x Grupo 3	0,507	t de Student	NS

TABELA 7 - ANÁLISE COMPARATIVA DA CREATININA SÉRICA INTRAGRUPOS

DADOS	VALOR DE p	TESTE APLICADO	SIGNIFICÂNCIA
MPP1 x MPP2			
Controle A (2h)	0,291	t de Student	NS
Controle B (4h)	0,094	"	NS
Grupo 2 (2h)	0,045	"	S
Grupo 3 (4h)	0,665	t de Student	NS
MPP1 x ME			
Controle A (2h)	0,219	t de Student	NS
Controle B (4h)	0,035	"	S
Grupo 2 (2h)	0,087	"	NS
Grupo 3 (4h)	0,344	t de Student	NS
MPP2 x ME			
Controle A (2h)	0,727	t de Student	NS
Controle B (4h)	0,494	"	NS
Grupo 2 (2h)	0,333	"	NS
Grupo 3 (4h)	0,109	t de Student	NS

TABELA 8 - ANÁLISE COMPARATIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO ENTRE GRUPOS

DADOS	MPP1		ME- Rim remanescente	
	Valor de p ⁽¹⁾	Significância	Valor de p ⁽¹⁾	Significância
DIÂMETRO GLOMERULAR				
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,023	S	0,255	NS
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,330	NS	0,154	NS
Grupo 2 x Grupo 3	0,539	NS	0,567	NS
VOLUME GLOMERULAR				
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,032	S	0,370 ⁽²⁾	NS
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,436 ⁽²⁾	NS	0,285 ⁽²⁾	NS
Grupo 2 x Grupo 3	0,214 ⁽²⁾	NS	0,525 ⁽²⁾	NS
ÁREA GLOMERULAR				
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,035	S	0,589	NS
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,215	NS	0,172	NS
Grupo 2 x Grupo 3	0,638	NS	0,455	NS
CÉLULAS MESANGIAIS				
Controle A (2 h) x Grupo 2	0,417	NS	0,033	S
Controle B (4 h) x Grupo 3	0,428	NS	0,709	NS
Grupo 2 x Grupo 3	0,942	NS	0,335	NS

(1) t de Student.

(2) Mann-Whitney.

TABELA 9 - ANÁLISE COMPARATIVA DO ESTUDO MORFOMÉTRICO INTRAGRUPOS - MPP1 x ME .

DADOS	VALOR DE p ⁽¹⁾	SIGNIFICÂNCIA
DIÂMETRO GLOMERULAR		
Controle A (2h)	0,529	NS
Controle B (4h)	0,352	NS
Grupo 2 (2h)	0,996	NS
Grupo 3 (4h)	0,163	NS
VOLUME GLOMERULAR		
Controle A (2h)	0,543 ⁽²⁾	NS
Controle B (4h)	0,410 ⁽²⁾	NS
Grupo 2 (2h)	0,858 ⁽²⁾	NS
Grupo 3 (4h)	0,211 ⁽²⁾	NS
ÁREA GLOMERULAR		
Controle A (2h)	0,512	NS
Controle B (4h)	0,528	NS
Grupo 2 (2h)	0,322	NS
Grupo 3 (4h)	0,333	NS
CÉLULAS MESANGIAIS		
Controle A (2h)	0,799	NS
Controle B (4h)	0,281	NS
Grupo 2 (2h)	0,215	NS
Grupo 3 (4h)	0,815	NS

(1) t de Student pareado; (2) Wilcoxon.

APÊNDICE 3 - ESTUDO MORFOLÓGICO

TABELA 10 - ESTUDO MORFOMÉTRICO - AVALIAÇÃO NO MPP1 (RIM ESQUERDO)

Nº	GRUPO	DIÂMETRO					VOLUME					ÁREA					NÚMERO DE CÉLULAS MESANGIAIS							
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	Média		
		Média					Média					Média					Média							
1	1A	116,32	115,87	88,66	110,87	123,45	111,03	0,82	0,81	0,37	0,71	0,99	0,74	7,589	6,323	7,554	12,366	11,544	9,075	24	27	23	23	24
2	1B	119,00	116,87	104,54	121,00	127,33	117,75	0,88	0,84	0,60	0,93	1,08	0,87	8,332	6,788	6,412	8,661	11,020	8,243	26	28	21	23	25
3	2	132,11	110,23	95,79	111,29	97,33	109,35	1,21	0,70	0,46	0,72	0,48	0,71	8,445	9,877	8,311	11,028	10,562	9,645	23	27	23	24	24
4	2	160,21	133,00	123,44	144,81	126,78	137,65	2,15	1,23	0,99	1,59	1,07	1,41	8,841	8,230	10,119	11,301	8,228	9,344	31	33	24	27	28
5	3	164,91	139,21	114,20	153,21	139,02	142,11	2,35	1,41	0,78	1,88	1,41	1,57	9,650	8,841	10,410	6,771	8,330	8,800	26	28	21	23	24
6	3	120,03	115,99	85,66	133,11	110,13	112,98	0,91	0,82	0,33	1,24	0,70	0,80	7,881	9,340	11,029	11,201	8,332	9,557	23	27	23	26	24
7	1B	121,74	88,35	114,48	111,66	103,16	107,88	0,94	0,36	0,79	0,73	0,57	0,68	8,945	6,781	8,515	6,395	6,824	7,492	23	24	23	20	23
8	3	129,71	117,55	102,65	127,89	92,71	114,10	1,14	0,85	0,57	1,10	0,42	0,81	11,686	8,355	8,516	11,687	6,397	9,328	25	25	27	25	26
9	2	118,74	117,05	122,61	150,22	163,17	134,36	0,88	0,84	0,97	1,78	2,28	1,35	8,036	9,518	9,868	14,711	18,559	12,138	18	22	30	29	23
10	3	145,14	119,60	180,68	139,66	164,08	149,83	1,60	0,90	3,09	1,43	2,31	1,87	11,224	10,216	16,566	11,788	14,811	12,921	24	22	23	23	26
11	2	122,01	138,02	120,35	101,04	130,70	122,42	0,95	1,38	0,91	0,54	1,17	0,99	8,680	10,495	8,135	6,258	11,685	9,051	21	20	19	18	32
12	2	125,85	103,67	116,56	128,71	116,59	118,28	1,04	0,58	0,83	1,12	0,83	0,88	11,685	8,515	8,356	11,585	8,354	9,699	25	25	25	32	24
13	3	162,08	139,66	179,66	179,66	118,60	155,93	2,23	1,43	3,04	3,04	0,87	2,12	14,811	11,687	11,685	12,466	10,214	12,173	26	23	27	21	24
14	2	130,92	108,93	163,15	163,06	138,66	140,94	1,18	0,68	2,27	2,27	1,40	1,56	9,179	9,813	18,555	14,611	11,685	12,769	20	22	29	26	22
15	1A	88,96	123,56	97,66	123,56	88,96	104,54	0,37	0,99	0,49	0,99	0,37	0,64	6,682	10,039	9,862	10,039	6,682	8,661	16	20	20	20	15
16	1B	106,01	101,11	136,18	132,62	101,11	115,41	0,62	0,54	1,32	1,22	0,54	0,85	7,571	7,798	11,876	11,874	7,778	9,379	12	18	20	21	18
17	1A	121,00	137,00	119,34	100,03	89,94	113,46	0,93	1,35	0,89	0,52	0,38	0,81	8,679	10,394	8,036	6,257	5,846	7,842	20	20	18	18	16
18	1B	112,00	99,36	110,03	96,21	95,02	102,52	0,74	0,51	0,70	0,47	0,45	0,57	9,021	8,965	9,901	7,789	7,845	8,704	19	14	17	17	18
19	3	92,70	97,97	113,55	146,44	129,41	116,01	0,42	0,49	0,77	1,64	1,14	0,89	6,396	6,257	7,879	15,357	11,123	9,402	25	21	24	36	22
21	3	128,56	118,56	122,38	143,51	106,00	123,80	1,11	0,87	0,96	1,55	0,62	1,02	10,394	9,346	10,215	11,686	7,570	9,842	19	18	23	21	12
22	3	88,95	123,55	97,65	104,77	99,02	102,79	0,37	0,99	0,49	0,60	0,51	0,59	6,681	10,039	9,863	8,679	6,681	8,389	15	20	21	15	31
24	2	104,27	128,48	112,80	132,12	120,26	119,59	0,59	1,11	0,75	1,21	0,91	0,92	6,971	11,877	7,119	9,010	7,418	8,479	16	23	14	19	15
26	2	134,36	132,68	120,43	105,21	108,47	120,23	1,27	1,22	0,91	0,61	0,67	0,94	7,429	9,689	7,418	5,982	8,355	7,775	25	16	20	20	21
27	3	117,90	113,18	91,66	104,85	89,86	103,49	0,86	0,76	0,40	0,60	0,38	0,60	9,517	6,538	7,119	6,538	6,396	7,222	26	18	15	20	16

continua

TABELA 10 - ESTUDO MORFOMÉTRICO - AVALIAÇÃO NO MPP1 (RIM ESQUERDO)

Nº	GRUPO	DIÂMETRO					VOLUME					ÁREA					NÚMERO DE CÉLULAS MESANGIAIS					conclusão			
		1	2	3	4	5	Média	1	2	3	4	5	Média	1	2	3	4	5	Média	1	2		3	4	5
		28	1B	134,79	178,63	121,38	129,61	140,62	141,01	1,28	2,99	0,94	1,14	1,46	1,56	10,938	13,664	9,863	9,517	8,195	10,435		22	22	15
29	3	112,09	121,69	111,58	121,36	98,21	112,99	0,74	0,94	0,73	0,94	0,50	0,77	8,947	7,778	8,965	6,598	6,854	7,828	19	19	26	23	14	20
30	1A	121,36	152,21	133,47	128,87	105,30	128,24	0,94	1,85	1,25	1,12	0,61	1,15	9,654	10,004	10,245	9,866	8,920	9,738	18	24	16	17	18	19
31	2	177,23	125,32	130,62	102,14	116,54	130,37	2,92	1,03	1,17	0,56	0,83	1,30	12,365	9,965	9,610	6,854	8,691	9,497	23	16	21	17	19	19
32	2	134,74	112,47	120,01	128,60	139,61	127,09	1,28	0,75	0,91	1,11	1,43	1,09	7,317	8,036	8,253	9,416	8,094	8,223	20	14	14	24	21	19
33	3	115,95	115,21	91,55	101,88	99,86	104,89	0,82	0,80	0,40	0,55	0,52	0,62	9,918	6,541	7,111	6,638	6,697	7,381	26	20	15	20	15	19
34	3	101,28	125,45	112,81	133,13	120,25	118,58	0,54	1,03	0,75	1,24	0,91	0,90	6,870	11,875	7,220	9,013	7,417	8,479	16	23	15	18	15	17
35	2	140,93	96,99	131,11	128,66	112,20	121,98	1,47	0,48	1,18	1,12	0,74	1,00	10,837	6,620	12,162	10,214	7,120	9,391	22	16	22	15	19	19
36	2	113,78	133,31	128,88	106,34	113,78	119,22	0,77	1,24	1,12	0,63	0,77	0,91	9,176	10,391	9,864	6,975	9,011	9,083	15	16	18	16	19	17
37	1A	117,99	113,19	99,66	104,89	89,89	105,12	0,86	0,76	0,52	0,60	0,38	0,62	9,519	6,539	7,191	6,539	6,399	7,237	26	20	16	23	16	20
38	1A	121,72	83,36	115,43	111,69	101,15	106,67	0,94	0,30	0,81	0,73	0,54	0,67	8,824	6,383	9,519	6,269	6,525	7,504	24	24	26	26	18	24
39	1A	125,53	158,62	121,39	121,65	145,65	134,57	1,04	2,09	0,94	0,94	1,62	1,32	7,734	13,868	9,869	9,515	8,195	9,836	13	23	16	25	20	19
40	1B	115,95	115,15	91,65	109,89	99,87	106,50	0,82	0,80	0,40	0,70	0,52	0,65	9,515	6,531	7,115	6,539	6,168	7,174	25	20	14	23	16	20
41	1B	125,25	95,91	117,88	128,27	111,78	115,82	1,03	0,46	0,86	1,11	0,73	0,84	7,419	5,883	9,818	7,719	9,111	7,990	19	15	19	15	26	19
42	1A	144,09	107,28	116,59	135,98	134,63	127,71	1,57	0,65	0,83	1,32	1,28	1,13	10,034	7,721	9,176	9,589	10,035	9,311	18	17	15	23	24	19
43	1B	115,45	121,35	121,01	90,55	95,87	108,85	0,81	0,94	0,93	0,39	0,46	0,70	8,816	9,563	8,344	7,119	5,582	7,885	26	15	18	18	22	20
44	1A	120,76	108,38	115,45	111,65	105,15	112,28	0,92	0,67	0,81	0,73	0,61	0,75	8,846	6,585	8,515	6,595	6,525	7,413	25	25	24	24	18	23
45	1A	101,21	116,81	98,28	111,65	95,92	104,77	0,54	0,83	0,50	0,73	0,46	0,61	7,721	8,816	6,872	8,515	5,582	7,501	17	23	19	22	18	20
46	1B	104,21	128,45	112,85	132,18	110,78	117,69	0,59	1,11	0,75	1,21	0,71	0,88	6,971	11,878	7,118	9,018	8,918	8,781	16	26	14	21	23	20
47	1A	141,95	96,99	133,16	129,69	112,29	122,82	1,50	0,48	1,24	1,14	0,74	1,02	10,739	6,782	12,170	10,219	7,119	9,406	26	16	23	16	20	20
48	1B	125,78	179,69	119,39	129,69	104,62	131,83	1,04	3,04	0,89	1,14	0,60	1,34	10,837	13,669	9,869	9,519	8,495	10,478	23	23	20	26	23	23
49	1B	141,55	129,78	89,19	88,79	127,32	115,33	1,49	1,14	0,37	0,37	1,08	0,89	10,575	8,199	8,975	5,434	8,779	8,392	26	23	20	23	22	23
50	1A	141,51	124,74	97,16	86,74	112,21	112,47	1,48	1,02	0,48	0,34	0,74	0,81	10,575	8,194	7,876	4,948	7,119	7,742	25	25	22	22	22	23
51	1B	114,94	114,14	91,64	104,84	89,84	103,08	0,80	0,78	0,40	0,60	0,38	0,59	9,414	6,434	7,114	6,438	6,496	7,179	25	18	18	20	20	20

TABELA 11 - ESTUDO MORFOMÉTRICO –AVALIAÇÃO NO ME (RIM REMANESCENTE)

Nº	GRUPO	DIÂMETRO					VOLUME					ÁREA					NÚMERO DE CÉLULAS MESANGIAIS								
		1	2	3	4	5	Média	1	2	3	4	5	Média	1	2	3	4	5	Média						
1	1A	163,35	146,67	140,98	134,79	127,56	142,67	2,28	1,65	1,47	1,28	1,09	1,55	9,345	8,655	11,090	12,778	12,456	10,864,8	19	28	30	21	24	24,4
2	1B	155,66	153,71	123,89	139,12	140,21	142,52	1,98	1,90	1,00	1,41	1,44	1,55	10,513	11,027	11,821	9,567	8,488	10,283,2	22	22	25	27	22	23,6
3	2	155,22	130,09	121,10	149,97	135,22	138,32	1,96	1,15	0,93	1,77	1,29	1,42	6,889	10,529	7,481	6,913	11,062	8,574,8	27	29	30	23	27	27,2
4	2	169,55	145,65	125,17	149,16	164,21	150,75	2,55	1,62	1,03	1,74	2,32	1,85	8,290	7,923	6,881	8,117	10,228	8,287,8	18	25	26	23	21	22,6
5	3	220,11	164,97	137,04	159,12	121,12	160,47	5,59	2,35	1,35	2,11	0,93	2,47	8,834	10,987	12,012	8,922	7,732	9,697,4	19	28	28	24	23	24,4
6	3	191,22	155,99	142,01	133,07	154,43	155,34	3,66	1,99	1,50	1,23	1,93	2,06	8,335	10,339	11,902	9,771	10,666	10,202,6	28	29	35	29	27	29,6
7	1B	135,80	178,66	115,46	129,62	103,14	132,54	1,31	2,99	0,81	1,14	0,57	1,36	10,939	13,666	8,517	9,516	6,822	9,892,0	23	22	24	24	20	22,5
8	3	97,98	113,56	146,50	129,42	108,33	119,16	0,49	0,77	1,65	1,14	0,67	0,94	6,257	7,880	15,358	11,124	11,418	10,407,4	21	24	33	22	17	23,4
9	2	144,12	118,58	179,66	163,06	138,66	148,82	1,57	0,87	3,04	2,27	1,40	1,83	11,122	10,214	16,465	14,709	11,685	12,839,0	23	21	29	26	23	24,4
10	3	123,61	151,24	109,93	164,18	131,91	136,17	0,99	1,81	0,70	2,32	1,20	1,40	9,968	14,811	9,910	18,559	9,288	12,507,2	22	30	22	29	18	24,3
11	2	126,87	92,71	113,56	108,36	144,44	117,19	1,07	0,42	0,77	0,67	1,58	0,90	11,685	6,396	7,880	7,419	15,454	9,766,8	27	25	24	17	35	25,5
12	2	100,02	120,35	138,01	113,54	144,54	123,29	0,52	0,91	1,38	0,77	1,58	1,03	6,258	8,136	10,194	7,878	15,355	9,564,2	18	19	20	24	35	23,1
13	3	144,12	118,55	130,91	163,16	108,91	133,13	1,57	0,87	1,18	2,27	0,68	1,31	11,122	10,215	9,177	9,986	9,811	10,062,2	24	22	18	29	22	23,0
14	2	129,71	117,57	102,69	118,01	92,71	112,14	1,14	0,85	0,57	0,86	0,42	0,77	11,687	8,366	8,517	11,675	6,396	9,328,2	32	25	25	34	25	28,2
15	1A	170,00	135,14	126,53	125,52	126,51	136,74	2,57	1,29	1,06	1,04	1,06	1,40	16,015	11,877	9,345	9,346	9,145	11,145,6	25	20	18	18	17	19,7
16	1B	106,01	132,17	88,94	121,37	143,57	118,41	0,62	1,21	0,37	0,94	1,55	0,94	7,571	11,677	6,680	10,213	11,687	9,565,6	17	22	15	22	20	19,1
17	1A	107,02	121,89	125,32	97,33	100,38	110,39	0,64	0,95	1,03	0,48	0,53	0,73	8,779	9,921	8,771	10,612	11,882	9,993,0	24	22	22	19	17	20,9
18	1B	129,70	117,58	102,68	148,00	127,88	125,17	1,14	0,85	0,57	1,70	1,10	1,07	11,686	8,355	8,516	11,676	11,686	10,383,8	31	25	25	34	26	28,2
19	3	108,35	118,75	152,23	117,04	111,60	121,59	0,67	0,88	1,85	0,84	0,73	0,99	7,418	8,036	13,288	9,517	8,844	9,420,6	16	15	23	18	19	18,2
21	3	151,48	101,10	126,52	136,19	170,00	137,06	1,82	0,54	1,06	1,32	2,57	1,46	12,010	7,879	9,346	11,877	16,017	11,425,8	20	17	18	20	27	20,4
22	3	143,03	95,87	120,06	112,52	121,00	118,50	1,53	0,46	0,91	0,75	0,93	0,91	10,039	5,581	7,570	8,679	7,418	7,857,4	25	17	18	26	18	20,9
24	2	132,99	140,67	155,22	145,92	110,79	137,12	1,23	1,46	1,96	1,63	0,71	1,40	9,689	12,069	11,309	11,877	9,010	10,790,8	22	23	25	23	21	22,7
26	2	123,88	144,01	118,33	107,90	113,99	121,62	1,00	1,56	0,87	0,66	0,78	0,97	8,775	11,222	9,334	6,774	8,226	8,866,2	24	23	23	21	16	21,4
27	3	135,75	113,48	121,02	126,63	100,23	119,42	1,31	0,77	0,93	1,06	0,53	0,92	7,418	8,036	8,355	7,724	8,355	7,977,6	20	8	15	13	21	15,2

continua

TABELA 11 - ESTUDO MORFOMÉTRICO –AVALIAÇÃO NO ME (RIM REMANESCENTE)

Nº	GRUPO	DIÂMETRO					VOLUME					ÁREA					NÚMERO DE CÉLULAS MESANGIAIS					conclusão			
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5		Média		
28	1B	120,75	87,36	115,47	111,67	103,17	107,68	0,92	0,35	0,81	0,73	0,58	0,68	8,844	6,681	8,516	6,396	6,825	7,452,4	25	24	24	24	19	23,1
29	3	104,69	115,32	98,32	114,58	96,32	105,85	0,60	0,80	0,50	0,79	0,47	0,63	6,559	8,517	8,974	9,021	5,828	7,779,8	16	21	20	19	15	18,2
30	1A	91,67	113,17	89,88	114,50	124,36	106,72	0,40	0,76	0,38	0,79	1,01	0,67	7,120	6,537	6,398	8,195	8,455	7,341,0	15	17	17	10	15	15,0
31	2	132,69	89,32	135,25	100,58	129,54	117,48	1,22	0,37	1,30	0,53	1,14	0,91	7,728	6,954	6,522	8,024	9,547	7,755,0	11	18	18	20	24	18,4
32	2	133,33	130,64	120,41	105,20	107,44	119,40	1,24	1,17	0,91	0,61	0,65	0,92	10,037	9,587	7,415	5,980	8,322	8,288,2	24	16	21	20	20	20,1
33	3	115,90	111,16	90,55	103,82	88,88	102,06	0,82	0,72	0,39	0,59	0,37	0,58	9,415	6,637	7,012	6,335	6,599	7,199,6	25	18	15	19	16	18,6
34	3	133,99	140,66	166,22	145,95	110,97	139,56	1,26	1,46	2,41	1,63	0,72	1,49	9,988	12,066	11,306	11,677	9,010	10,809,4	23	22	25	22	20	22,5
35	2	124,80	88,35	115,45	111,66	101,11	108,27	1,02	0,36	0,81	0,73	0,54	0,69	11,038	6,685	8,515	6,395	6,821	7,890,8	22	15	25	25	17	20,9
36	2	106,25	117,81	98,15	111,68	99,92	106,76	0,63	0,86	0,50	0,73	0,52	0,65	7,825	8,617	6,918	8,520	5,989	7,573,8	18	22	19	23	16	19,8
37	1A	135,81	113,49	121,09	126,69	101,25	119,67	1,31	0,77	0,93	1,07	0,54	0,92	7,418	8,039	9,399	7,729	8,356	8,188,2	23	21	16	13	22	18,9
38	1A	131,78	78,62	121,32	125,65	145,62	120,60	1,20	0,25	0,94	1,04	1,62	1,01	10,931	13,662	9,862	9,515	8,196	10,433,2	21	21	16	25	22	20,9
39	1A	102,21	105,45	135,66	101,25	105,45	110,00	0,56	0,61	1,31	0,54	0,61	0,73	6,982	8,354	9,585	5,585	8,355	7,772,2	21	22	15	22	22	20,1
40	1B	121,76	81,36	115,41	111,66	103,16	106,67	0,95	0,28	0,81	0,73	0,57	0,67	8,945	6,682	9,116	6,696	6,826	7,653,0	25	24	24	25	18	23,3
41	1B	101,15	141,61	100,25	109,58	112,23	112,96	0,54	1,49	0,53	0,69	0,74	0,80	6,525	8,195	8,556	6,969	7,110	7,471,0	18	22	22	20	20	20,2
42	1A	120,05	107,27	121,88	155,21	120,44	124,97	0,91	0,65	0,95	1,96	0,92	1,07	7,770	6,781	9,865	11,310	7,417	8,628,6	19	19	18	26	22	20,9
43	1B	135,35	126,48	151,67	111,68	103,15	125,67	1,30	1,06	1,83	0,73	0,57	1,10	10,035	11,866	12,065	6,398	6,525	9,377,8	15	25	26	24	18	21,7
44	1A	144,05	95,38	123,03	113,53	120,05	119,21	1,57	0,45	0,98	0,77	0,91	0,93	10,035	5,583	7,373	8,679	7,118	7,757,6	25	18	18	24	19	20,8
45	1A	105,25	116,85	95,25	111,65	115,75	108,95	0,61	0,84	0,45	0,73	0,81	0,69	7,525	8,515	6,571	8,515	9,510	8,127,2	18	22	17	22	25	20,7
46	1B	141,45	126,79	89,19	84,75	112,23	110,88	1,48	1,07	0,37	0,32	0,74	0,80	10,575	8,199	8,674	4,944	7,119	7,902,2	26	23	18	15	18	19,9
47	1A	117,97	119,19	91,99	104,89	109,87	108,78	0,86	0,89	0,41	0,60	0,69	0,69	9,519	6,539	7,120	6,938	6,397	7,302,6	26	20	16	22	20	20,7
48	1B	134,50	132,66	124,55	105,21	105,45	120,47	1,27	1,22	1,01	0,61	0,61	0,95	11,021	9,688	7,413	5,582	9,633	8,667,4	19	23	22	21	21	21,3
49	1B	114,55	134,33	128,89	105,35	113,75	119,37	0,79	1,27	1,12	0,61	0,77	0,91	9,145	10,033	9,963	6,575	9,121	8,967,4	19	23	18	22	19	20,1
50	1A	115,75	114,44	121,05	124,64	104,24	116,02	0,81	0,78	0,93	1,01	0,59	0,83	7,518	8,436	8,366	7,424	8,456	8,040,0	22	18	19	21	23	20,7
51	1B	135,24	113,44	121,08	129,69	100,29	119,95	1,30	0,76	0,93	1,14	0,53	0,93	7,419	8,139	8,856	7,728	8,655	8,159,4	23	20	19	20	23	20,8

ANEXO

ANEXO 1 - TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 004/04 datado de 10/02/04), intitulado: **Efeitos do pneumoperitônio em ratos portadores de rim único adquirido: estudo morfológico e funcional do rim remanescente**, de autoria de **Luiz Sergio Santos**, por estar de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotados pelo **Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA)** do Campus I – PUC-PR, foi **aprovado em reunião do CEPA de 04/03/2004**

Curitiba, 04 de março de 2004.

Prof. Dr. Zacarias Alves de Souza Filho
Presidente do Comitê – CEPA/PUC-PR

