



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Rodrigo Gibin Jaldin

**Efeito do clampeamento aórtico no estresse oxidativo
e na função renal durante cirurgia aórtica
minimamente invasiva:**

Estudo Experimental em Porcos

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Bases Gerais da Cirurgia.

Rodrigo Gibin Jaldin

Efeito do clampeamento aórtico no estresse oxidativo e na função renal durante cirurgia aórtica minimamente invasiva: estudo experimental em porcos

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Bases Gerais da Cirurgia – Área de Concentração em Agressão e Injúria Tecidual (Isquemia, trombose, reperfusão e revascularização dos tecidos).

Orientador: Prof. Dr. Winston Bonetti Yoshida

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo de Alvarenga Yoshida

Botucatu

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Jaldin, Rodrigo Gibin.

Efeito do clampeamento aórtico no estresse oxidativo e na função renal durante cirurgia aórtica minimamente invasiva : estudo experimental em porcos / Rodrigo Gibin Jaldin. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Winston Bonetti Yoshida
Coorientador: Ricardo de Alvarenga Yoshida
Capes: 40102149

1. Suíno - Doenças. 2. Doenças vasculares. 3. Aorta abdominal. 4. Aneurisma da aorta. 5. Laparoscopia.

Palavras-chave: Aneurisma de aorta abdominal; Cirurgia vídeo-assistida; Doenças vasculares; Laparoscopia; Procedimentos endovasculares.

“À minha amada mãe Ana Maria Gibin, pelo amor incondicional e por doar-se integralmente a minha formação pessoal e intelectual”.

“Ao meu pai Emílio Jaldin Calderón (*in memoriam*) por introduzir-me ao exercício da medicina”.

“À minha Família, pelo carinho acolhedor de todos os momentos”.

Ao Professor Winston Bonetti Yoshida,

Pela orientação de longa data e particularmente neste trabalho, por seus inúmeros ensinamentos e principalmente por me apresentar o deslumbrante mundo da investigação científica.

Pela amizade, cuidado paternal e paciência.

Ao Professor e Amigo Ricardo de Alvarenga Yoshida,

Pelo incentivo, apoio e ensinamentos em conjunto neste desafio científico e principalmente por ser o mentor da semente deste projeto.

Pela amizade espontânea de todo momento.

Aos para sempre Professores, Parceiros de trabalho e Amigos de Vida:

Dr. Francisco Humberto de Abreu Maffei,

Dr. Sidnei Lastória,

Dra. Regina Moura,

Dr. Marcone Lima Sobreira,

Dr. Matheus Bertanha,

Pelos ensinamentos, apoio e amizade durante a concretização desta etapa.

Ao Amigo-irmão da Disciplina de Cirurgia Pediátrica Dr. Pedro Luiz Toledo de Arruda Lourenção pelo companheirismo e fundamental parceria na realização deste projeto.

Ao Grande Amigo e Companheiro Dr. Marcone Lima Sobreira, por sua prontidão, amizade e carinho.

Ao Amigo Zootecnista e Técnico de Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental Ednelson Henrique Bianchi pela fundamental atuação, parceria, empenho e competência na execução deste projeto.

Aos Funcionários do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental, particularmente do Técnico Luis Edvalter Bardella pelo empenho e competência na execução da monitorização intra-operatória dos animais e no ensaios de tração.

A Douglas de Jesus Jacinto Pinto pelo auxílio na formatação de textos, gráficos e figuras.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia.

Ao Professor Dr. Ralf Kolvenbach, Chefe dos Departamentos de Cirurgia Geral e Cirurgia Vascular do Augusta Krankenhaus _ Verbund Katholischer Kliniken Dusseldorf (Alemanha), por ser um entusiasta deste projeto de pesquisa e pela recepção acolhedora em seu serviço durante visita técnica.

Aos amigos de trabalho diário em Cirurgia Vascular Dr. Rafael Elias Pimenta, Jamil Victor de Oliveira Mariúba e Paula Angeleli Bueno de Camargo pela paciência e colaboração durante a execução deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo financiamento deste projeto.

À Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, por minha integral formação profissional e por sediar de modo estruturado a execução de estudos experimentais.

**“Se eu vi mais longe, foi por estar
sobre ombros de gigantes”.**

Isaac Newton

Capítulo I – Revisão da Literatura

Repercussões Sistêmicas do Trauma Cirúrgico nas Diferentes

Técnicas de Acesso Aórtico: Cirurgias Aberta, Laparoscópica e

Endovascular

Artigo de Revisão.....	13
Resumo.....	14
Abstract.....	15
1. Introdução.....	16
2. Aspectos Técnicos das Vias de Cirurgia Aórtica.....	18
3. Alterações Hemodinâmicas Relacionadas à Cirurgia da Aorta.....	21
4. Estresse Oxidativo e Lesão de Isquemia e Reperfusão.....	23
5. Lesão Renal em Cirurgia Aórtica.....	25
6. Conclusão.....	28
7. Referências Bibliográficas.....	30

Capítulo II – Artigo 1

Efeito do clampeamento aórtico sobre o estresse oxidativo e a função renal durante acesso aórtico minimamente invasivo: estudo experimental em porcos

Artigo 1.....	37
Resumo.....	38
Abstract.....	40
1. Introdução.....	42
2. Material e Métodos.....	44
3. Resultado.....	52
4. Discussão.....	56
5. Conclusão.....	62
6. Agradecimentos.....	63
7. Referências Bibliográficas.....	64
8. Figuras e Tabelas.....	72

Capítulo III – Artigo 2

Alterações histopatológicas no cólon esquerdo de porcos submetidos ao modelo experimental de interrupção de fluxo aórtico: comparação entre as diferentes vias de acesso à cirurgia aórtica

Artigo 2.....	84
Resumo.....	85
Abstract.....	87
1. Introdução.....	89
2. Material e Métodos.....	91
3. Resultado.....	96
4. Discussão.....	97
5. Conclusão.....	100
6. Referências Bibliográficas.....	101
7. Figuras e Tabelas.....	106

Capítulo IV – Anexo

Anexo.....	116
------------	-----

Revisão da Literatura

Repercussões Sistêmicas do Trauma Cirúrgico nas Diferentes

Técnicas de Acesso Aórtico: Cirurgias Aberta, Laparoscópica e

Endovascular

Resumo

A cirurgia aórtica com clampeamento infrarrenal está associada a produção aumentada de radicais livres e a complexos distúrbios hemodinâmicos que podem comprometer a função renal pós-operatória. Inferindo-se que o menor trauma cirúrgico provocaria menor estresse oxidativo, métodos pouco invasivos (videolaparoscopia e endovascular) poderiam trazer menor morbi-mortalidade em cirurgias que envolvam a interrupção de fluxo aórtico. Embora haja aparente benefício dos métodos menos invasivos sobre as repercussões sistêmicas do trauma cirúrgico convencional, as respostas fisiopatológicas do organismo após abordagem cirúrgica endovascular e videolaparoscópica devem ser consideradas, uma vez que nestas opções terapêuticas utilizam-se, respectivamente meio contraste e pneumoperitônio, potenciais agressores renais. Assim, os acessos para interrupção do fluxo aórtico variam em grau de invasidade, mas todos podem cursar com alterações hemodinâmicas e potenciais efeitos deletérios sobre a função renal. Nesta revisão foram enfocados os pontos críticos envolvidos na morbi-mortalidade pós-operatória em cirurgia da aorta abdominal, atentando para a relação entre aspectos técnicos e repercussões oxidativas e hemodinâmicas.

Descritores: Doenças vasculares, aneurisma da aorta abdominal, cirurgia vídeo-assistida, laparoscopia, procedimentos endovasculares.

Abstract

Aortic surgery is associated to a high incidence of perioperative complications. Cross-clamping and unclamping of the aorta may produce a complex array of pathophysiological changes which reflect the functional status of the circulatory and urinary systems. Minimally invasive methods may lead to lower morbidity and mortality in surgery involving the aortic clamping since it is considered that minimal surgical trauma induce lower oxidative stress. On the other hand, endovascular and laparoscopic approaches vary in severity but they are related to hemodynamic changes and potential deleterious effects on renal function. In this review, we focused on the critical issues and postoperative morbidity and mortality in aortic surgery, highlighting features of technique for the treatment of abdominal aortic aneurysms.

Descriptors: Vascular Diseases; Aortic Aneurysm, Abdominal; Video-assisted surgery, Laparoscopy; Endovascular procedures.

1. Introdução

As técnicas atualmente bem estabelecidas para o tratamento das doenças da aorta abdominal, particularmente do aneurisma de aorta adominal infra-renal (AAA), são o reparo endovascular, a cirurgia laparoscópica e a cirurgia aberta convencional¹. Independentemente da técnica escolhida, a morbimortalidade da cirurgia aórtica está relacionada aos complexos distúrbios hemodinâmicos decorrentes da interrupção do fluxo aórtico, principalmente no que tange à lesão renal aguda e aos metabólitos do processo de isquemia e reperfusão².

A lesão renal aguda decorrente da cirurgia aórtica é associada ao aumento da mortalidade e de custos hospitalares. A incidência de insuficiência renal após a cirurgia aberta convencional do AAA é de aproximadamente 5% quando o clampeamento é infra-renal e de 17% quando se trata de clampeamento supra-renal³. Sabe-se que a interrupção de fluxo sanguíneo aórtico mesmo quando infra-renal cursa com redução de fluxo renal em torno de 40%, redução do fluxo cortical e elevação da resistência vascular do parênquima⁴. Em cirurgia laparoscópica, estima-se que haja 75% de redução do fluxo sanguíneo renal e da filtração glomerular e queda de 50% no débito urinário, provocados pela pressão positiva intra-cavidade induzida pelo pneumoperitônio⁵. Diversos mecanismos levariam a piora da função renal após a correção endovascular do AAA (EVAR) como administração de contraste, embolização durante a insuflação do balão de acomodação e a manipulação de fios e cateteres e a cobertura do óstio da artéria renal^{4,6}. A incidência de piora da função renal após EVAR é reportada entre 6 a 29% a depender da presença de alteração da função renal pré-operatória⁷. Dessa forma, a detecção precoce da lesão renal aguda é crítica para evitar sua progressão e melhorar os resultados operatórios.

O termo estresse oxidativo refere-se ao desbalanço entre a produção de oxidantes e do respectivo sistema de defesa⁸, está relacionado à resposta inflamatória sistêmica e pode ser quantificado por diversos biomarcadores. Qualquer tipo de trauma, incluindo o trauma operatório, pode resultar em estresse oxidativo. A formação de radicais livres de oxigênio está aumentada durante a cirurgia abdominal como resultado do processo de isquemia e reperfusão, ativação leucocitária e disfunção mitocondrial⁹. Há significativa evidência na literatura de estresse oxidativo e aumento da resposta inflamatória em pacientes submetidos à cirurgia aórtica eletiva, através do consumo dos sistemas antioxidantes e da produção de metabólitos oxidados e peroxidação lipídica¹⁰. Supõe-se que as abordagens aórticas minimamente invasivas cursam com menor resposta inflamatória secundária ao trauma cirúrgico e preservação da função imunológica¹¹. Porém, a elevação da pressão intra-abdominal durante o pneumoperitônio, as alterações hemodinâmicas por ele induzidas e os ciclos de inflação/deflação presentes na via laparoscópica poderiam levar a isquemia-reperfusão visceral e estresse oxidativo sistêmico e visceral, uma vez que intestinos, peritônio, fígado e rins encontrar-se-iam sob estresse oxidativo durante cirurgias abdominais⁹. Da mesma forma, a isquemia e reperfusão do músculo esquelético de membros inferiores associada à cirurgia vascular é responsável por causar diversas condições patológicas como mioglobínúria e hiperpotassemia¹².

Ainda que as abordagens endovascular, laparoscópica e a cirúrgica convencional sejam bem definidas como opções de tratamento do AAA, na grande maioria dos centros aptos ao tratamento desta doença, a estratégia terapêutica em geral restringe-se nas cirurgias aberta convencional e endovascular, fazendo com que a literatura careça de dados que determinem o papel da via laparoscópica dentro do arsenal terapêutico atual. Na prática clínica, a vantagem de se dominar diferentes estratégias terapêuticas seria oferecer o

tratamento mais adequado e que melhor se adapte ao paciente e sua doença, sempre que possível utilizando-se de técnicas pouco invasivas e contemplando na indicação parâmetros como risco operatório, morfologia do AAA, expectativa de vida, embasamento na literatura e experiência da equipe cirúrgica¹.

Embora haja aparente benefício dos métodos menos invasivos sobre as repercussões sistêmicas do trauma cirúrgico convencional, não há estudo clínico ou experimental que analise simultaneamente as três opções terapêuticas de cirurgia aórtica, bem como que defina os possíveis valores adicionais da cirurgia laparoscópica como alternativa minimamente invasiva ao tratamento endovascular das doenças da aorta.^{13, 14}

2. Aspectos Técnicos das Vias de Cirurgia Aórtica

O AAA consiste em uma dilatação arterial localizada, cujo diâmetro transversal supera em pelo menos 50% o diâmetro transversal esperado para a aorta normal do indivíduo, tem prevalência estimada em 3% dos homens acima de 50 anos e corresponde a aproximadamente 2% das causas de morte em homens de 65 anos¹⁵. Quando identificado sem associação com sintomas agudos, a intervenção cirúrgica é efetiva e segura, com mortalidade perioperatória baixa amplamente relacionada a causas cardíacas. A determinação da via cirúrgica mais adequada frente às opções terapêuticas existentes para a correção das doenças da aorta, particularmente do AAA infra-renal, tem sido tema frequente e atual na literatura^{1, 16-21}.

2.1. Cirurgia Aberta (Convencional)

A experiência cirúrgica, os avanços nos materiais protéticos e de sutura e melhorias nos cuidados perioperatórios e anestésicos fazem da Cirurgia Convencional para o reparo do AAA um método muito seguro e durável²². Porém, na cirurgia convencional são requeridas incisão e dissecação extensas e clampeamento e desclampeamento aórticos, gerando períodos variados de isquemia-reperusão de órgãos e membros inferiores, intensa redistribuição de líquidos, alteração da temperatura central e ativação de fatores neuro- hormonais e inflamatórios¹⁰.

2.2. Cirurgia Videolaparoscópica

A cirurgia aórtica videolaparoscópica foi proposta como alternativa menos invasiva para o tratamento de pacientes portadores de aneurismas de aorta ou doença oclusiva aorto-ilíaca^{20, 23-25} firmando-se como técnica pouco invasiva, factível e segura. As vantagens da técnica laparoscópica comparadas à cirurgia convencional são as mesmas encontradas em outras áreas cirúrgicas: redução do trauma cirúrgico, incisões abdominais menores, menor dor pós-operatória, realimentação oral precoce e menor período de internação hospitalar^{26, 27}. Porém, considera-se como principal limitação para a difusão dessa técnica a prolongada curva de aprendizado²⁶. As técnicas envolvidas na reconstrução aórtica por via laparoscópica são aquelas assistidas, incluindo *Hand-assisted Laparoscopic Surgery (HALS)* e Cirurgia Laparoscópica Assistida (dissecação laparoscópica seguida por mini-laparotomia para confecção da anastomose), e totalmente laparoscópica (quando se realiza dissecação e anastomose via laparoscopia)²⁸. Para sua execução, se faz necessária a criação de espaço operatório que viabilize a captação de imagens pela camera e a realização do procedimento, o que se faz pela insuflação de gás carbônico (pneumoperitônio).

Apesar do amplo desenvolvimento das técnicas laparoscópicas em áreas como cirurgia geral, cirurgia urológica e ginecológica, houve dificuldade de solidificação da técnica laparoscópica em cirurgia vascular ainda que centros da Europa, Estados Unidos e Canadá obtiveram avanços nestes procedimentos, melhorando as técnicas operatórias e criando protocolos para sua utilização no tratamento das doenças da aorta. Recentemente, centros da China reportam avanços técnicos com a diminuição do número de trocares na correção do AAA²⁹. No Brasil, esforços iniciais têm sido realizados por *Yoshida e col.* para a implantação e divulgação desta técnica como opção terapêutica^{30, 31, 32}. O conceito básico que mantém a cirurgia aórtica laparoscópica como alternativa terapêutica seria a combinação dos excelentes e duráveis resultados observados na cirurgia aberta convencional por endoaneurismorrafia, descrita por Creech em 1966 com a vantagem de uma abordagem pouco invasiva. Isso porque os princípios cirúrgicos da cirurgia laparoscópica são os mesmos da cirurgia convencional²².

Concomitantemente a difusão da cirurgia aórtica videolaparoscópica, houve grande evolução das técnicas e materiais endovasculares para o tratamento destas doenças, dificultando a solidificação da técnica videolaparoscópica na cirurgia vascular e firmando-se como o método de pouco invasivo de escolha no tratamento do AAA. No entanto, a técnica endovascular para correção do AAA ainda é limitada por obstáculos como morfologia do aneurisma (colo curto, muito angulado, por exemplo), pela doença obstrutiva aorto-iliaca e pelos custos associados ao tratamento^{22,33}.

2.3. Cirurgia Endovascular

A cirurgia endovascular modificou radicalmente o tratamento do AAA e consiste em implante endoluminal de um *stent-graft* (endoprótese) a partir de sítio arterial

remoto. Apesar de não haver clampeamento aórtico durante o tratamento endovascular de rotina, há oclusão temporária do fluxo aórtico pelos dispositivos de liberação das endopróteses e pela insuflação do balão de acomodação após liberação do dispositivo³⁴.

As vantagens teóricas deste procedimento seriam evitar a manipulação intra-abdominal, uma vez que dispensa a laparotomia, e minimizar o tempo de interrupção do fluxo aórtico, possibilitando redução de mortalidade perioperatória, diminuição do tempo em terapia intensiva e estada hospitalar, menores perda sanguínea e necessidade de transfusão²².

A literatura vigente carece de estudos clínicos e experimentais que analisem simultaneamente as três opções terapêuticas de cirurgia aórtica. Visando minimizar tal deficiência, *Coscas e cols.* (2014)¹ realizaram estudo retrospectivo de resultados operatórios para sugerir um algoritmo terapêutico para melhor destinar os pacientes para as opções aberta, videolaparoscópica ou endovascular, concluindo que seria possível propor tratamento minimamente invasivo em 89% dos casos de AAA.

3. Alterações Hemodinâmicas Relacionadas à Cirurgia da Aorta

A cirurgia da aorta é caracterizada por intensas e abruptas alterações hemodinâmicas, pois requer pinçamento e despinçamento, duração variável do tempo de isquemia-reperfusão dos órgãos-alvo, deslocamento de fluidos entre os compartimentos corporais e flutuações de temperatura significativa, além de ativação maciça das respostas neuro-humorais e inflamatórias³⁴. A fisiopatologia do pinçamento aórtico é complexa e dependente de múltiplos fatores. Dentre estes, os principais são: função ventricular esquerda, grau de circulação colateral peri-aórtica, volume circulante efetivo e distribuição do volume

sanguíneo, ativação do sistema nervoso autônomo simpático e técnica e agentes anestésicos empregados. O pinçamento da aorta promove hipertensão e hiperfluxo proximais, enquanto, nos territórios abaixo do pinçamento, ocorrem hipotensão e hipofluxo^{34, 35}. A resposta hemodinâmica decorrente do despinçamento depende de uma série de fatores, incluindo nível de pinçamento, tempo total de pinçamento e volume intravascular. De qualquer forma, hipotensão é a resposta hemodinâmica mais comum após o despinçamento aórtico, principalmente se o pinçamento tiver sido supra-celíaco. Há intensa hiperemia reativa nos territórios previamente isquêmicos e a hipovolemia central relativa é o principal mecanismo da hipotensão. Ainda, a liberação para a circulação de mediadores vasoativos e cardiodepressores provenientes dos tecidos isquêmicos também pode contribuir para o agravamento da hipotensão².

As técnicas menos invasivas para o tratamento do AAA, minimizariam as repercussões hemodinâmicas descritas. Isso fica bastante evidente nos procedimentos endovasculares, nos quais se observa significativa redução da mortalidade e morbidade perioperatória nos diversos estudos clínicos disponíveis, comparando-os com a técnica convencional. Na técnica laparoscópica há que se considerar a necessidade de uso do pneumoperitônio (PP), que por sua vez induziria a repercussões cardiovasculares, renais e viscerais³⁶⁻⁴⁰.

4. Estresse Oxidativo e Lesão de Isquemia e Reperfusão

Por estresse oxidativo entende-se o evento resultante do desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidante e a geração de espécies reativas do oxigênio (ROS) ou do nitrogênio (RNS)⁴¹. Esse processo resulta na formação aumentada destas moléculas altamente reativas, as quais podem reagir com proteínas, membranas lipídicas e DNA, causando dano ao organismo, lesão à órgãos à distância e mediando a Síndrome da Resposta Inflamatória

Sistêmica (SIRS). As ROS mais importantes são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila ($\text{OH}^{\square-}$) e o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\square-}$), que são altamente reativos. Antioxidantes são quaisquer substâncias que, quando presentes, retardam ou inibem a oxidação (Halliwell & Gutteridge, 1999). Podem ser de dois tipos principais, os enzimáticos (superóxido dismutase-SOD, catalase-CAT, glutathione peroxidase-GSH-Px) e os não enzimáticos (carotenóides, tocoferol, ácido ascórbico, selênio, ácido úrico, etc). A SOD foi a primeira enzima metabolizadora de ERO a ser descoberta⁴². A conversão de $\text{O}_2^{\square-}$ em H_2O_2 e O_2 (dismutação) pela SOD é frequentemente chamada de defesa primária contra o estresse oxidativo, porque o ânion superóxido é forte iniciador de reações em cadeia. Embora o H_2O_2 não seja um verdadeiro ERO, pode reagir com metais redox ativos como ferro e cobre, produzindo novos ERO. Além disso, tem meia vida longa e grande capacidade de se difundir através das membranas celulares⁴³. A CAT localiza-se predominantemente em peroxissomos, onde catalisa a decomposição do H_2O_2 em H_2O e O_2 . A GSH-Px é encontrada principalmente no citosol e nas mitocôndrias e é a principal enzima de remoção do H_2O_2 produzido fora dos peroxissomas. Ela catalisa a redução de H_2O_2 em H_2O utilizando glutathione, na sua forma reduzida (GSH) como substrato. Quando a GSH é oxidada na reação, haverá a formação de GSSG (glutathione oxidada). Assim, o equilíbrio entre a atividade das três principais enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px é de extrema importância para a remoção dos intermediários tóxicos de oxigênio dos sistemas biológicos⁴⁴.

O estresse oxidativo pode ser quantificado através de dosagens de diversos biomarcadores, o que se faz pela quantificação direta dos radicais livres, pela dosagem dos produtos finais originados pela lesão oxidativa ou pelos níveis individuais ou totais dos antioxidantes. Como exemplos, podemos citar a dosagem de Malondialdeído (MDA) que é um

subproduto da peroxidação lipídica e dosagens de componentes do Sistema de Defesa Antioxidantes (SDA), como por exemplo Glutationa Reduzido (GSH), Glutationa Peroxidase (GSH-Px), Glutationa Redutase (GSH-Rd) e Superóxido Dismutase (SOD)^{9, 45}.

Há significativa evidência de estresse oxidativo e aumento da resposta inflamatória em pacientes submetidos à cirurgia aórtica eletiva, através do consumo dos sistemas antioxidantes e da produção de metabólitos oxidados e peroxidação lipídica⁴⁵. Além do trauma cirúrgico decorrente da laparotomia, manipulação visceral e dissecação retroperitoneal, realiza-se pinçamento/despinçamento com consequente reperfusão e geração de ROS. Embora haja redução ou ausência de interrupção de fluxo aórtico durante o tratamento endovascular com consequente redução de severidade de repercussão da reperfusão, Thompson e col (1996)⁴⁶ observaram que a redução na produção de ROS no grupo endovascular não foi significativa em comparação ao grupo cirurgia aberta. As abordagens videolaparoscópicas sobre a aorta cursariam com menor resposta inflamatória secundária ao trauma cirúrgico com níveis menores de proteínas pró-inflamatórias identificáveis no pós-operatório⁴⁷, entretanto a elevação da pressão intra-abdominal durante o pneumoperitônio, as alterações hemodinâmicas por ele induzidas e os ciclos de inflação/deflação presentes na via laparoscópica poderiam levar a isquemia-reperfusão visceral e estresse oxidativo sistêmico e visceral, uma vez que intestinos, peritônio, fígado e rins encontram-se sob estresse oxidativo durante cirurgias abdominais. Arsalani-Zadeh e col (2011)⁹, encontraram menor estresse oxidativo sistêmico em cirurgia laparoscópica quando comparada à cirurgia aberta, porém não é conclusivo sobre eventuais repercussões do PP no estresse oxidativo locoregional e hipoxia tecidual.

A lesão de isquemia e reperfusão (IRI), leva a resposta inflamatória e lesão a órgãos-alvo. A reperfusão do tecido isquêmico desencadeia resposta inflamatória proporcional à

extensão, ao tempo de isquemia e à capacidade adaptativa do paciente. Esses tecidos lesados por isquemia perdem a capacidade de controlar o metabolismo do oxigênio, resultando em metabolismo celular anaeróbico, queda do glicogênio celular e dos níveis de ATP, provocando disfunção de membranas e edema celular, bem como intensificação na produção de ROS via enzima Xantina Oxidase (XO), os quais possuem íntima relação com lesão tecidual e disfunções orgânicas⁹. Radicais livres, além de causar lesão celular direta por peroxidação das membranas lipídicas, ativam a cascata inflamatória através de ativação do complemento, aumento de síntese de moléculas de adesão endotelial, ativação de leucócitos e disfunção microvascular. A resposta inflamatória sistêmica inclui a liberação de óxido nítrico (NO), a ativação das cascatas proteolíticas (bradicinina, plasmina), a geração e liberação de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-6), a ativação da cascata do complemento, a migração leucocitária e a ativação da cascata de coagulação.^{9, 45} Diversos estudos sugerem que a musculatura dos membros inferiores possa atuar como potencializador da resposta inflamatória durante a correção cirúrgica do AAA, independentemente da via escolhida⁴⁵.

5. Lesão Renal em Cirurgia Aórtica

O desenvolvimento de insuficiência renal aguda (IRA) pós-operatória cursa com aumento substancial na morbi-mortalidade. Independentemente do nível de interrupção de fluxo aórtico, observa-se redução do fluxo renal, redução da taxa de filtração glomerular, elevação de 70% na resistência vascular renal e em alguns pacientes provoca necrose tubular aguda. Obviamente, estas alterações intensificam-se no clampeamento supra-renal. Durante a interrupção de fluxo aórtico supra-renal, nota-se redução de 80% no fluxo sanguíneo renal, sendo que este encontra-se reduzido em 40% nos pincamentos infra-renais. Mesmo após a reperfusão aórtica e estabilidade hemodinâmica, pode ser observada temporariamente redução

de fluxo renal e da taxa de filtração glomerular. Somado a isso, a isquemia muscular dos membros inferiores pode gerar lesão glomerular direta através da mioglobinúria⁴⁸.

Em geral, pacientes com IRA apresentam uma taxa de mortalidade próxima a 50%. A disfunção renal é fator preditivo independente para aumento da mortalidade em longo prazo. Fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento de IRA após cirurgia para correção de aneurisma de aorta abdominal incluem: hipotensão durante a cirurgia (pressão arterial média < 60 mm Hg por mais de 15 minutos), baixo índice cardíaco, rabdomiólise, altas doses de contraste e reoperação precoce. Os pacientes submetidos à cirurgia de aorta apresentam alguns fatores de risco para IRA, incluindo hipovolemia, isquemia-reperfusão, rabdomiólise e envolvimento da vasculatura renal pela própria doença aórtica⁴⁹.

Mesmo as opções minimamente invasivas para a correção do AAA possuem pontos críticos em relação à disfunção renal intra-operatória. Na via laparoscópica, observa-se redução do fluxo sanguíneo renal e da filtração glomerular e queda no débito urinário, provocados pela pressão positiva induzida pelo PP³⁸. Martin-Cancho e col (2009)³⁶, sugerem que deve ser evitada a laparoscopia em pacientes com nefropatia crônica preexistente, uma vez que há expressiva redução do débito urinário nas associações entre clampeamento aórtico prolongado e PP. Nas intervenções endovasculares, as principais causas de lesão renal aguda são nefropatia induzida pelo contraste, microembolizações ou oclusão da artéria renal, fixação supra-renal das endopróteses, infarto renal ou lesão de isquemia-reperfusão dos membros inferiores^{4,6}.

O reconhecimento precoce e a correção desses fatores podem prevenir ou atenuar o dano renal desses pacientes. O diagnóstico da IRA pré-renal pode ser feito, além do quadro clínico, por meio da Excreção Fracionada de Sódio (EFS) inferior a 1%. O diagnóstico da IRA pós-cirurgia de aorta pode ser feito por meios laboratoriais. A dosagem de creatina sérica (ou a

taxa de filtração glomerular estimada por esta) é o indicador laboratorial mais comumente utilizado para este fim por ser simples e barato. Porém, a dosagem da creatinina apresenta falhas, principalmente na detecção de estágios precoces ou brandos de IRA, pois o aumento plasmático da creatinina pode ser retardado por algumas horas, ou até por alguns dias, após o início da disfunção renal. O critério de *RIFLE* (**R**isco – aumento da creatinina de 1,5 vez os valores pré-operatórios, ou declínio da taxa de filtração glomerular (TFG) > 25%, ou débito urinário (DU) < 0,5 ml.kg⁻¹.h⁻¹ por 6 horas; **L**esão - aumento da creatinina de 2 vezes os valores pré-operatórios, ou declínio da TFG > 50%, ou DU < 0,5 ml.kg⁻¹.h⁻¹ por 12 horas; e **I**nsuficiência - aumento da creatinina de 3 vezes os valores pré-operatórios, ou declínio da TFG > 75%, ou DU < 0,5 ml.kg⁻¹.h⁻¹ por 24 horas, ou aumento agudo da creatinina > 4 mg.dl⁻¹)⁵⁰ permitiria o diagnóstico de disfunção renal em estágios precoces, possibilitando tomada de medidas que previnam a progressão da disfunção renal para o estágio de insuficiência.⁵¹ Atualmente, marcadores mais precoces e precisos para a avaliação da função renal têm sido utilizados, com destaque para a utilização da Cistatina C e do NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*)⁵². Tanto Cistatina C, quanto NGAL plasmáticos, entretanto, podem ser influenciados por outros fatores que não a perda da função renal. Por outro lado, a dosagem urinária destes marcadores parece ser mais fidedigna e confiável do que as dosagens plasmáticas na detecção de IRA, mesmo em estágios iniciais e em formas brandas e moderadas⁵³. Dessa forma, na literatura atual nota-se crescente uso da Cistatina C Sérica e Cistatina C Urinária como marcadores para tentativa de detecção precoce da lesão renal sub-clínica em procedimentos endovasculares sobre a aorta.

6. Conclusão

A cirurgia da aorta continua desafiadora por apresentar severas perturbações da homeostase e conseqüente desenvolvimento de disfunção de múltiplos órgãos, independentemente da via cirúrgica utilizada. A manutenção da volemia, da estabilidade hemodinâmica e da oferta de oxigênio aos diversos tecidos, além do controle do sangramento reduzem mormente as complicações pós-operatórias relacionadas ao trauma cirúrgico e a injúria renal. O tratamento endovascular do AAA está bem estabelecido em nosso meio como opção terapêutica minimamente invasiva. A longa curva de aprendizado associada a competição com técnicas endovasculares continua sendo uma importante limitação a difusão da videolaparoscopia fazendo com que sejam insuficientes os dados disponíveis para definir que tipo de paciente se beneficiaria diretamente com a indicação dos procedimentos laparoscópicos e quais seriam os critérios clínicos e anatômicos para esta indicação. Dessa forma, Faltam estudos comparando estes acessos e sobre as possíveis vantagens e limitações de cada técnica. Além disso, parece recomendável que o jovem cirurgião vascular, que já possui certos conceitos de cirurgia laparoscópica em sua formação em cirurgia geral, se familiarize com a cirurgia aórtica videolaparoscópica. Os avanços tecnológicos da laparoscopia, da robótica e dos materiais endovasculares fornecerão importante impulso a cirurgia aórtica minimamente invasiva, levando-nos a inferir que futuramente a cirurgia aórtica será realizada ou por via percutânea com as próteses endovasculares ou através de técnicas que envolvam micro-incisões e laparoscopia. Em conclusão, as técnicas endovasculares, laparoscópicas e aberta devem ser vistas com complementares e não concorrentes. Isso porque com seu uso bem indicado, torna-se possível propor ao paciente tratamento minimamente invasivo na absoluta maioria das doenças da aorta, com baixa morbi-mortalidade. Além disso, o domínio de todas estas

técnicas permite ao serviço de cirurgia vascular associa-las nos casos complexos, na necessidade de conversão e para o tratamento das complicações tardias¹.

7. Referências Bibliográficas *

1. Coscas R, Maumias T, Capdevila C, Javeliat I et al. Mini-invasive Treatment of Abdominal Aneurysms: Current Roles of Endovascular, Laparoscopic and Open Techniques. *Ann Vasc Surg*, 2014; 28: 123-131.
2. Posner M, Gelman S. Pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. In: Baillie's Clinical Anaesthesiology. Vol. 14, No. 1, pp. 143-160, 2000, available online at <http://www.idealibrary.com>.
3. Harris JR, Fan CM, Geller SC, Brewster DC, Greenfield AJ, Santilli JG, Waltman AC. Renal perfusion defects after endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Interv Radiol*, 2003; 14:329-333.
4. Pirgakis KM, Makis K, Dalainas I, Lazaris AM, Maltezos CK, Liapis. Urinary Cystatin C as an early biomarker of Acute Kidney Injury after open and endovascular abdominal aortic aneurysms repair. *Ann Vasc Surg*, 2014; 28(7): 1649-58.
5. Struthers AD, Cuschieri A. Cardiovascular consequences of laparoscopic surgery. *Lancet* 1998; 352:568-70.
6. Walsh SR, Tang TY, Boyle JR. Renal consequences of endovascular abdominal aortic repair. *J Endovasc Ther* 2008; 15(1):73-82.
7. Abdelhamid MF, Davies RS, Vohra RK, Adam DJ, Bradbury AW. Assessment of renal function by means of Cystatin C following standard and fenestrated endovascular aneurysm repair. *Ann Vasc Surg*, 2013; 27: 708-713.

* Referências Bibliográficas elaboradas de acordo com o International Committee of Medical Journal Editors. *Ann Intern Med*. 1997; 26: 36-47.

8. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1-17.
 9. Arsalani-Zadeh R, Ullah S, Khan S, MacFie J. Oxidative stress in Laparoscopic versus Open Abdominal Surgery: A Systematic Review. *J Surg Res*, 2011; 169: e59-e68.
 10. Cornu-Labat G, Serra M, Smith A, McGregor WE, Kasirajan K, Hirko MK, Turner JJ, Rubin JR. Systemic consequences of oxidative stress following aortic surgery correlated with the degree of antioxidant defenses. *Ann Vasc Surg*, 2000; 14: 31-36.
 11. Whelan RL, Franklin M, Holubar SD et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic versus open colorectal resection in humans. *Surg Endosc*, 2006; 17:972.
 12. Westman B, Johansson G, Luo JL, Soderlund K, Wernerman J Hammarqvist. Effects on skeletal muscle Glutathione Status os Ischemia and Reperfusion following abdominal aortic aneurysm surgery. *Ann Vasc Surg*, 2006; 20: 99-105.
 13. Javeliat I, Capdevila C, Beauchet A et al. Results of Laparoscopic Surgery for Abdominal Aortic Aneurysms in Patients with Standart Surgical Risk and Anatomic Criteria Compatible with EVAR. *Ann Vasc Surg* 2013; 27 (4):412-17.
 14. Nio D, Diks J, Bemelman WA. Laparoscopic Vascular Surgery: A Systematic Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2007; 33: 263e-271.
 15. Diehm N, Dick F, Schaffner T, Schmidli J, Kalka C, Di Santo et al. Novel insight into the pathobiology of abdominal aortic aneurysm and
-

- potential future treatment concepts. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2007; 50 (3): 209-17.
16. Prinssen M, Verhoeven E, Buth J et al. A randomized trial comparing conventional and endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med* 2004; 351:1607-18.
17. Greenhalgh RM, Brown LC, Kwong GP et al. Comparison of Endovascular aneurysm repair with open repair in patients with abdominal aortic aneurysm (EVAR trial 1), 30-day operative mortality results: randomized controlled trial. *Lancet* 2004; 364:843-8.
18. Blankensteijn JD, de Jong SE, Prinssen M et al. Two-year outcomes after conventional or endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med* 2005; 352: 2398-405.
19. Schermerhorn ML, O'Malley AJ, Jhaveri A, Cotterill P, Pomposelli F, Landon BE. Endovascular vs. open repair of abdominal aortic aneurysms in the medicare population. *N Engl J Med* 2008;358:464-74.
20. Coggia M, Javerliat I, Di Centa I, Alfonsi P, Colacchio G, Kitzis M, et al. Total laparoscopic versus conventional abdominal aortic aneurysm repair: a case-control study. *J Vasc Surg* 2005;42:906-10.
21. Cochenec F, Javerliat I, Di Centa I, et al. A comparison of total laparoscopic and open repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 2012;55:1549-53.
22. Chaikof E, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard A, Timaran C, Upchurch Jr G, Vieth F. The care of patients with an abdominal aortic aneurysm : The Society for Vascular Surgery practice
-

- guidelines. *J Vasc Surg*, 2009; 50(8S) : 2S-49S.
23. Alimi YS, Caridi G, Hartung O, Barthelemy P, Boufi M, Aissi K, Otero A. Hand-Assisted Laparoscopic Infrarenal Aortic Reconstruction. In: Branchereau A, Jacobs M, eds. *Hybrid Vascular Procedures*. Volume 1. 1a ed ed. Malden - Massachusets: Blackwell Publishing, 2004:115-126.
24. Kolvenbach R. Total laparoscopic aortic aneurysm surgery. *Acta Chir Belg* 2006;106:36-9.
25. Coggia M, Javerliat I, Di Centa I, Colacchio G, Cerceau P, Kitzis M, Goeau-Brissonniere OA. Total laparoscopic infrarenal aortic aneurysm repair: preliminary results. *J Vasc Surg* 2004;40:448-54.
26. Javeliat I, Capdevila C, Beauchet A et al. Results of Laparoscopic Surgery for Abdominal Aortic Aneurysms in Patients with Standart Surgical Risk and Anatomic Criteria Compatible with EVAR. *Ann Vasc Surg* 2013; 27 (4):412-17.
27. Nio D, Diks J, Bemelman WA. Laparoscopic Vascular Surgery: A Systematic Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2007; 33: 263e-271.
28. Economopoulos KP, Martinou E, Hakimian S et al. An overview os laparoscopic techniques in abdominal aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg*. 2013; 58 (2): 512-20.
29. Guan Y, Xu J, Yin H, Zhao L et al. Three trocars laparoscopic abdominal aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg* 2012; 56: 1422-5.
30. Yoshida RA, Yoshida WB, Kolvenbach R et al. Curva de aprendizado em cirurgia aórtica videolaparoscópica: estudo experimental em porcos. *J Vasc Br*. 2008, 7:232-38.
-

31. Yoshida RA, Yoshida WB, Jaldin RG et al. Cirurgia aorto-iliaca videolaparoscópica para tratamento de isquemia crítica de membros: relato do primeiro caso no Brasil. *J Vasc Br.* 2009, 8:364-70.
 32. Yoshida RA, Yoshida WB, Jaldin RG et al. Cirurgia aórtica totalmente laparoscópica para tratamento de isquemia crítica de membros: relato do primeiro caso no Brasil. *J Vasc Br.* 2010, 9: 66-73.
 33. Rodway AD, Powell JT, Brown LC et al. Do Abdominal Aortic Aneurysm Necks increase in size faster after endovascular than open repair? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008, 35, 685-93.
 34. Poli de Figueiredo LF, Mathru M, Tao W *et al.* Effect of isovolemic hemodilution on hemodynamics and global oxygen delivery and consumption during descending thoracic aortic cross-clamping and lower torso reperfusion. *Surgery* 1997; 122:32–8.
 35. Shenaq SA, Chelly JE, Karlberg H *et al.* Use of nitroprusside during surgery for thoracoabdominal aortic aneurysm. *Circulation* 1984; 70:7–10.
 36. Martin-Cancho MF, Sanchez-Margallo, Soria F et al. Physiological Responses to Different Ischemic Periods during Laparoscopic Infrarenal Aortic Cross-Clamping: Evaluation in an Experimental Animal Model. *Ann Vasc Surg*, 2009, 23 (4): 506-518.
 37. Martin-Cancho MF, Crisostomo V, Soria F et al. Physiologic Responses to Infrarenal Aortic Cross-Clamping during Laparoscopic or Conventional Vascular Surgery in Experimental Animal Model: Comparative Study. *Anesthesiol Res Pract* 2008; 1-8; doi:10.1155/2008/581948.
 38. Demyttenaere S, Feldman LS, Fried GM. Effect of pneumoperitoneum on renal perfusion and function: a systematic review. *Surg Endosc*
-

2007;21:152-60.

39. Kirsch AJ, Hensle TW, Chang DT, Kayton ML, Olsson CA, Sawczuk IS. Renal effects of CO₂ insufflation: oliguria and acute renal dysfunction in a rat pneumoperitoneum model. *Urology* 1994;43:453-9.
 40. Guler C, Sade M, Kirkali Z. Renal effects of carbon dioxide insufflation in rabbit pneumoretroperitoneum model. *J Endourol* 1998;12:367-70.
 41. Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000;149:43-50.
 42. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244:6049-55.
 43. Yoshida WB. Radicais livres na síndrome da isquemia e reperfusão / Free radicals in the ischemia-reperfusion syndrome *Cir. vasc. angiolog.* 1996;12(2):82-95.
 44. Ribeiro, M. E., and W. B. Yoshida. Reperfusion injury after intestinal ischemia: pathophysiology and experimental models. *J Vasc Br* 2005; 4: 183-94.
 45. Cornu-Labat G, Serra M, Smith A, McGregor WE, Kasirajan K, Hirko MK, Turner JJ, Rubin JR. Systemic consequences of oxidative stress following aortic surgery correlated with the degree of antioxidant defenses. *Ann Vasc Surg.* 2000; 14: 31-6.
 46. Thompson MM, Nasim A, Sayers RD et al. Oxygen Free Radical and Cytokine Generation During Endovascular and Conventional Aneurysm Repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996; 12: 70-75.
 47. Kolvenbach R, Deling O, Schwierz E, Landers B. Reducing the operative trauma in aortoiliac reconstructions – a prospective study to evaluate the role of
-

- vídeo-assisted vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 1998; 15: 483-488.
48. Bihorac A, Yavas S, Subbiah S *et al.* Long-term risks of mortality and acute kidney injury during hospitalization after major surgery. *Ann Surg* 2009; 249:851-8.
49. Brooks CE, Middleton A, Dhillon R *et al.* Predictors of creatinine rise post-endovascular abdominal aortic aneurysm repair. *ANZ J Surg* 2011; 81:827-30.
50. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA *et al.* Acute renal failure – definition, outcome measures animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; 8:R204-R212.
51. Yue J, Luo Z, Guo D *et al.* Evaluation of acute kidney injury as defined by the risk, injury, failure, loss, and end-stage criteria in critically ill patients undergoing abdominal aortic aneurysm repair. *Chin Med J* 2013; 126:431-6.
52. Devarajan P. Review: neutrophil gelatin-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology* 2010; 15:419-28.
53. Kokot M, Biolik G, Ziaja D *et al.* Acute kidney injury after abdominal aortic aneurysm surgery: detailed assessment of early effects using novel markers. *Pol Arch Med Wewn* 2012; 122:353-9.
-

Artigo 1

**Efeito do clampeamento aórtico sobre o estresse oxidativo e a
função renal durante acesso aórtico minimamente invasivo: estudo
experimental em porcos**

Resumo

Contexto: O clampeamento infrarrenal e trauma cirúrgico estão associados a alterações hemodinâmicas e oxidativas que podem comprometer a função renal pós-operatória.

Objetivo: Avaliar o estresse oxidativo, os distúrbios hemodinâmicos e lesão renal em diferentes acessos cirúrgicos com interrupção temporária do fluxo sanguíneo aórtico:

tradicional, endovascular ou videolaparoscópico. **Material e Métodos:** 30 porcos, fêmeas, com

15-30kg, foram divididos aleatoriamente em 3 grupos, sendo todos submetidos, sob

anestesia geral inalatória, a interrupção de fluxo da aorta abdominal por 60 minutos, por

diferentes técnicas: Grupo C (n=10), através de laparotomia transperitoneal; Grupo L

(n=10), através da técnica totalmente laparoscópica; Grupo EV(n=10), através da via

endovascular por insuflação de balão de oclusão de aorta. Foi feita monitorização

intraoperatória de pressão arterial, frequência cardíaca, balanço hídrico e coleta de amostras

de sangue antes do procedimento e 60 minutos após a reperfusão. Os desfechos primários

estudados foram: volume de sangramento, estresse oxidativo sistêmico (dosagens de

Malondialdeído, Glutathiona Reduzido e atividade de Glutathiona Peroxidase) e lesão renal

pela histologia e dosagens de Creatinina, de Cistatina-C e avaliação do estresse oxidativo

no parênquima renal. **Resultados:** O grupo C necessitou maior reposição de cristalóide. O

débito urinário foi significativamente maior no grupo EV. Houve redução da temperatura

corporal ao longo do procedimento apenas nos grupos C e L e redução da pressão arterial

média após a liberação do fluxo sanguíneo aórtico significativa no grupo C. Houve

aumento de Cistatina C no grupo EV. O grupo L apresentou o menor volume de diurese no

intraoperatório. **Conclusão:** Na via endovascular ocorre manutenção da temperatura

corporal e menor perda líquida. A alteração funcional renal foi mais pronunciada em EV e a

lesão microestrutural mais frequente em EV e L. Apesar de serem métodos menos invasivos,

houve lesões renais discretas e mais pronunciadas nas técnicas endovascular e videolaparoscópica. A ausência de laparotomia e de manipulação intra-abdominal no grupo EV parece ser a grande vantagem do método em relação à estabilidade hemodinâmica intra-operatória.

Descritores: Doenças vasculares, aneurisma da aorta abdominal, cirurgia vídeo-assistida, laparoscopia, procedimentos endovasculares.

Abstract

Background: Aortic surgery is associated with a high incidence of perioperative complications and cross-clamping and unclamping of the aorta produce a complex array of pathophysiological changes which reflect the functional status of the circulatory and urinary systems. Minimally invasive methods could lead to lower morbidity and mortality in surgery involving the aortic clamping since it is considered that minimal surgical trauma induce lower oxidative stress. The aim of this study is to assess the effects of different surgical methods used for aortic surgery (Endovascular, Laparoscopic and Open Techniques) on intraoperative hemodynamic parameters, renal oxidative injury and renal function. **Materials and Methods:** Experiment were performed on 30 female pigs, weight 15-30kg, wich were randomly allocated to 3 study groups: C, medline transperitoneal laparotomy for infrarenal abdominal aortic access with 60 min of cross-clamping; L, laparoscopic infrarenal abdominal aortic surgery with 60 min of cross-clamping; EV, remote proximal aortic control with the transfemoral arterial insertion of aortic occlusion balloon catheter which was inflated offering continued aortic occlusion from 60min. The primary outcomes studied were: volume of bleeding, systemic oxidative stress (malondialdehyde dosages, Reduced Glutathione and glutathione peroxidase activity) and renal injury by measuring Creatinine levels, Cystatin-C levels, histology and oxidative stress in renal parenchyma. **Results:** Higher replacement of fluid were required in C. Urinary volume was significantly higher in EV. There was a decrease in body temperature throughout the surgery in C and L. Decrease in invasive arterial blood pressure after aortic unclamping occurs in all groups. There was no significative change in serum creatinine, but we note that C cystatin levels were higher at the end of the experimental period in EV. **Conclusion:** Endovascular approach required less fluid replacement and had higher

urinary output during the surgery intercourse. It is suggested that the absence of laparotomy and intra-abdominal manipulation can be the great advantage of this approach. The functional renal injury was more pronounced in EV and more frequent microstructural damage in EV and L. On the other hand, the tendency to greater renal injury in endovascular approach could be due to the administration of radiocontrast media.

Descriptors: Vascular Diseases; Aortic Aneurysm, Abdominal; Video-assisted surgery, Laparoscopy; Endovascular procedures.

1. Introdução

A cirurgia aberta convencional, laparoscópica ou endovascular são as técnicas atualmente bem estabelecidas para o tratamento das doenças da aorta, particularmente no aneurisma de aorta adominal infrarrenal (AAA)¹. Independentemente da técnica escolhida, a morbimortalidade da cirurgia aórtica pode ter contribuição de complexos distúrbios hemodinâmicos e liberação de catabólitos do processo de isquemia e reperfusão com repercussões funcionais e lesões renais agudas^{2,3,4}.

A incidência de insuficiência renal após a cirurgia aberta convencional do AAA é de aproximadamente 5% quando o clampeamento é infrarrenal e de 17% quando o clampeamento é suprarrenal⁵. Sabe-se que a interrupção do fluxo aórtico, mesmo quando infrarrenal, cursa com redução em torno de 40% no fluxo sanguíneo renal, redução do fluxo cortical e elevação da resistência vascular do parênquima renal⁶⁻⁹.

Através de diversos biomarcadores, verificou-se aumento do estresse oxidativo e resposta inflamatória em pacientes submetidos à cirurgia aórtica convencional eletiva, seja por consumo dos sistemas antioxidantes e ou incremento da produção de metabólitos oxidados e da peroxidação lipídica¹⁰⁻¹². A isquemia e reperfusão do músculo esquelético dos membros inferiores associada ao clampeamento aórtico libera entre outros produtos tóxicos renais a mioglobina, que pode causar lesão renal¹³. Supõe-se que as abordagens aórticas minimamente invasivas causariam menor resposta inflamatória secundária ao trauma cirúrgico.¹⁴

Em cirurgias laparoscópicas, estima-se que haja 75% de redução do fluxo sanguíneo renal e da filtração glomerular e queda de 50% no débito urinário, provocados pela pressão positiva intracavidade induzida pelo pneumoperitônio^{6,7}. Neste tipo de procedimento,

a elevação da pressão intra-abdominal durante o pneumoperitônio com ciclos de inflação/deflação levariam a isquemia-reperfusão visceral e estresse oxidativo sistêmico e visceral com repercussões cardiovasculares¹².

Diversos mecanismos levariam a piora da função renal após a correção endovascular do AAA (EVAR) como a administração de contraste, embolização durante a manipulação de cateteres, fios e insuflação do balão de acomodação ou a cobertura do óstio da artéria renal^{4, 8}. A incidência de piora da função renal após EVAR é reportada entre 6 a 29% dependendo da presença de alteração prévia da função renal pré-operatória⁹.

Embora haja aparente benefício dos métodos menos invasivos sobre as repercussões sistêmicas do trauma cirúrgico convencional, não há estudo clínico ou experimental que analise simultaneamente as três opções terapêuticas de abordagem aórtica, bem como que defina os possíveis valores adicionais da cirurgia laparoscópica como alternativa minimamente invasiva ao tratamento endovascular das doenças da aorta^{15, 16}. Dessa maneira, o objetivo central deste estudo é avaliar a intensidade do trauma operatório relacionado com a via de acesso cirúrgico para a interrupção de fluxo aórtico através da avaliação de estresse oxidativo e de alterações da função e estrutura renal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Animais de Experimentação

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (Protocolo CEEA 899-2011). Foram usados 30 porcos, fêmeas, mestiços *Large White x Landrace*, com peso entre 15 a 30kg, provenientes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP (Botucatu-SP). Após período de adaptação entre 5 e 10 dias, os animais foram aleatoriamente (sorteio de papелotes opacos dobrados) divididos nos 3 grupos experimentais:

Grupo C (n=10) – Os animais foram submetidos a laparotomia mediana transperitoneal e o fluxo sanguíneo da aorta abdominal foi interrompido por 60 minutos com pinça de De Bakey infrarrenal.

Grupo L (n=10) – Os animais foram submetidos a acesso abdominal videolaparoscópico com pneumoperitônio e o fluxo sanguíneo da aorta abdominal foi interrompido por 60 minutos por meio de pinça aórtica laparoscópica infrarrenal.

Grupo EV (n=10) – Os animais tiveram o fluxo sanguíneo da aorta abdominal infrarrenal interrompido por 60 minutos através da insuflação local de balão de oclusão de aorta por acesso femoral remoto.

Procedimentos de Anestesia

Após jejum de 8 horas, os animais receberam medicação pré-anestésica: 0,1mg/kg de Acepromazina (Acepran® 1%), 8mg/kg de Quetamina (Cetamin®), 0,5 mg/kg de xilazina (Xilazin®) e 0,5mg/kg de morfina (Dimorf®) por via intramuscular. Em seguida, a veia

central da orelha foi canulada com Jelco 22 G e feita a indução anestésica por administração de 2mg/kg de Quetamina e 2mg/kg de Diazepan (Compaz®). O animal foi então colocado na mesa cirúrgica para intubação oro-traqueal com cânula número 7,0. A manutenção anestésica foi realizada com Isoflurano na taxa de 5-10ml/kg/min. A ventilação mecânica foi efetuada em aparelho *Takaoka* modelo 2.600 (Nikkei – Brasil), com os seguintes parâmetros: volume corrente de 10ml/kg de oxigênio (10 a 12 MRM) para manter a pressão expiratória de gás carbônico (PETCO₂) entre 35 e 40 mmHg. A hidratação basal foi realizada com solução de Ringer Lactato (5ml/kg/h), seguida de 0,084ml/kg/min para manutenção, em bomba de infusão intravenosa e completada com a infusão de soro fisiológico 0,9%, se necessário. Não foi feita decompressão gástrica por sondagem nasogástrica. A monitorização intra-operatória consistiu em oximetria por sensor na língua, termometria corporal (transretal) e pressão arterial invasiva (artéria carótida comum direita). Foi registrado o volume de cristalóide adicional necessário para manutenção da estabilidade hemodinâmica intra-operatória. Foram realizados em todos os animais os seguintes procedimentos pré-operatórios padrão:

- Dissecção, isolamento e cateterismo da artéria carótida comum com introdutor 6F para monitorização da Pressão Arterial Invasiva (PAI);
- Dissecção, isolamento e cateterismo da artéria femoral comum com introdutor 6F para coleta de amostras sanguíneas;
- Cistostomia supra-púbica para implante de sonda vesical *Foley* 14F, para medidas do débito urinário e coleta de amostras de urina

Administrou-se via endovenosa Heparina Sódica (100UI/kg) imediatamente antes da interrupção de fluxo aórtico. Ao término do experimento, os animais foram sacrificados.

Procedimentos Cirúrgicos

Grupo C (Cirurgia Aberta Convencional): Com animais em decúbito dorsal horizontal, foi feita a laparotomia mediana, dissecação da goteira parieto-cólica de Told e abertura da Fáschia de Gerota; após a exposição do retroperitônio, foi feita a identificação da aorta infrarrenal, da veia renal esquerda (cruzando a aorta anteriormente) e a exposição das artérias renais, seguido de posicionamento da pinça de De Bakey logo abaixo das artérias renais. Durante o clampeamento, as vísceras foram posicionadas na cavidade e a incisão foi coberta por compressas úmidas em soro fisiológico aquecido visando evitar a tração do mesentério e a hipotermia.

Grupo L (Cirurgia Laparoscópica): Os animais foram posicionados na mesa cirúrgica em decúbito lateral direito de 70° . O pneumoperitônio foi iniciado através de punção percutânea com Agulha de *Veress* no espaço subcostal esquerdo, e acoplamento do sistema ao Insuflador de CO₂ (Fluxun LP, Astustec Medical Technology, São Paulo, Brasil). Após a realização de pneumoperitônio com CO₂ com pressão de 12 mmHg, um trocar de 11 mm foi posicionado lateralmente à cicatriz umbilical para a introdução da lente óptica de 30° (laparoscópio 10mm 0 Grau) na qual foram acoplados cabo de fibra óptica 4,8mm de iluminação de Fonte de Luz Fria (Lucens Xenon, Astustec Medical Technology, São Paulo, Brasil) e Microcâmera Full HD (Visun, Astustec Medical Technology, São Paulo, Brasil), para captura e transmissão da imagem para Monitor LCD 24". Após o estabelecimento da pressão intra-abdominal em 12 mmHg, dois outros trocarter de 11 mm foram inseridos lateralmente à linha média, acima e abaixo da linha do umbigo. Outros três trocarter de 11 mm foram posicionados ao longo do lado esquerdo da parede abdominal, tendo por referência o rebordo costal, a linha axilar média, o músculo grande dorsal e a crista ilíaca. A exposição da aorta iniciou-se através da mobilização medial do cólon esquerdo, do rim esquerdo e da

flexura esplênica, utilizando-se de pinças laparoscópicas como *graspers*, tesouras e bisturi harmônico (*Ultracision® – Johnson & Johnson®*). A fásia de *Gerota* foi então exposta e o cólon esquerdo mobilizado seguindo a técnica *Apron*, descrita por Dion¹⁷. Quando completada a dissecação da aorta abdominal, uma pinça aórtica hemostática laparoscópica foi posicionada na aorta infrarrenal.

Grupo EV (Cirurgia Endovascular) - Os animais foram posicionados na mesa cirúrgica em decúbito dorsal horizontal. Após a antisepsia da região inguinal, foram colocados os campos cirúrgicos. Através de inguinotomia oblíqua, a artéria femoral comum esquerda foi acessada. Sob visão direta, realizou-se a punção retrograda da artéria femoral comum com agulha de corpo único de 21G e passado guia metálico rígido ponta “J”, permitindo cateterismo arterial com introdutor 6F 11cm (*Terumo®*) pela técnica de *Seldinger*. Após a progressão de fio guia hidrofílico 0,035” 260cm *Roadrunner (Cook Medical®)* até a aorta infrarrenal guiada por radioscopia (*Arco Cirúrgico Phillips®, modelo BV 300, USA*), foi introduzido cateter angiográfico de *Pig Tail 5F (Cook Medical®)* para realização de aortografia, através da injeção de 20 ml de contraste não-iônico *Optiray®*, com delimitação das artérias renais, pré e pós-insuflação do balão, totalizando 40ml de contraste. O cateter angiográfico, após retirada do introdutor e hemostasia por compressão manual, foi substituído por cateter-balão complacente para oclusão aórtica (*Coda Balloon Catheter®, Cook Medical®, USA*). Foi então locado o balão logo abaixo da origem das artérias renais, sendo insuflado até interrupção total do fluxo, com controle angiográfico.

Períodos Experimentais

As variáveis hemodinâmicas intra-operatórias e as amostras de sangue e urina foram coletadas em cinco momentos:

- M1: antes da indução do pneumoperitônio (PP) ou laparotomia ou cateterismo com o introdutor femoral;
- M2: imediatamente antes da interrupção de fluxo sanguíneo na aorta;
- M3: imediatamente após a reperfusão aórtica (desclampamento);
- M4: 30 minutos após a reperfusão aórtica;
- M5: 60 minutos após a reperfusão aórtica;

Variáveis Intra-operatórias

Foram analisados os tempos cirúrgicos, perda sanguínea, temperatura corporal, pressão arterial média, frequência cardíaca, saturação periférica de oxigênio, reposição volêmica e o débito urinário dos animais para cada tipo de intervenção. O volume adicional de hidratação com cristaloides foi expresso da seguinte forma:

- volume absoluto de soro fisiológico, expresso em ml/min
- volume relativo de soro fisiológico, obtido em relação ao tempo necessário para a abordagem cirúrgica completa e corrigido pelo peso do animal, expresso em ml/kg/min

A quantificação do volume urinário intraoperatório foi realizada de duas formas:

- Volume urinário parcial, obtido em relação ao tempo, para cada momento de estudo e expresso em ml/min
 - Volume urinário total, obtido em relação ao tempo necessário para a abordagem cirúrgica completa e corrigido pelo peso do animal, expresso em ml/kg/min
-

Avaliação da função renal

As amostras de sangue e urina destinadas à avaliação dos parâmetros bioquímicos. Foram mantidas em refrigeração a – 20 graus C e encaminhadas para análise laboratorial de química seca e hematológico no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias do Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP. A função renal foi primariamente monitorizada pelo *Clearance* de Creatinina. Os valores obtidos foram, também, corrigidos pelo peso, de forma que o resultado final foi expresso em ml/min/kg. Os seguintes parâmetros também foram determinados: Glicemia; Creatinina Plasmática e Urinária; Uréia Plasmática e Urinária; Sódio Plasmático e Urinário; Potássio Plasmático e Urinário; Hematócrito (Ht); Hemoglobina (Hb); Osmolaridade Plasmática e Urinária. A partir das dosagens acima, foram calculados os seguintes parâmetros:

- *Clearance* Osmolar (ml/min);
- *Clearance* de água livre (ml/min);

As amostras de sangue destinadas a dosagem de Cistatina C foram inicialmente centrifugadas, sendo as alíquotas do sobrenadante separadas em tubos *ependorf*, em duplicata e mantidos em congelamento de -80 graus celsius. Foi determinada através de kit de dosagem de cistatina C – *Pig Cystatin C, cys-c Elisa Kit*, pelo próprio fornecedor na empresa *Science Pro* (São Caetano, São Paulo). A partir dos resultados, estimou-se o Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) por meio do *Método de Larsson*.

Avaliação de Estresse Oxidativo

O perfil oxidativo dos animais foi avaliado por dosagens pelo método Elisa ou HPLC, no Laboratório Experimental de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP. Foram quantificados Malondialdeído (MDA), Glutathiona Reduzido (GSH) nas

amostras de plasma pela técnica de HPLC (High Performance/ Pressure Liquid Chromatography)^{18,19} a atividade da Glutathione Peroxidase (GSH-Px) no plasma e Mieloperoxidase (MPO) e Glutathione Reduzido (GSH) em fragmentos de rim por kits comerciais (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan 48108 USA).

Histologia Renal

Biópsias em formato de cunha do pólo superior dos rins direito e esquerdo medindo 1,5 cm³ foram fixadas em formol tamponado a 10% e processadas em blocos de parafina. Secções histológicas de 4µm foram coradas pela Hematoxilina e Eosina (H&E) e pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS). As amostras foram examinadas por microscopia óptica e caracterizadas segundo Solez et al^{20,21} para necrose tubular aguda. Os aspectos morfológicos foram avaliados independentemente por dois patologistas experientes sem conhecimento dos grupos de intervenção cirúrgica ou da função renal prévia aos procedimentos realizados. Foi usado um escore semiquantitativo (0-3+) sendo escore 0 para estrutura normal, escore +1 para alterações discreta, escore +2 para alteração moderada e escore +3 para alteração intensa e difusa. Os critérios histológicos analisados do compartimento tubular, intersticial e glomerular foram: descamação celular, perda da borda em escova do epitélio tubular, adelgaçamento do epitélio tubular, dilatação tubular, degeneração microvacular, necrose tubular, cilindros intratubulares, hemorragia intersticial, congestão capilar, infiltrado inflamatório intersticial e dilatação do espaço de Bowman.

Análise Estatística

O tamanho amostral foi calculado com base em estudos experimentais de modelo suíno em cirurgia aórtica^{22, 23, 24, 25} e naqueles que comparam técnica aberta e laparoscópica em relação a alterações renais, com frequência de redução da diurese de 19,5% nas cirurgias convencionais e de 58,4% nas videolaparoscópicas após 60 minutos de cirurgia⁷. Com poder do teste de 90% e nível de significância de 5% o tamanho amostral foi calculado em 10 animais por grupo. Para os dados que apresentaram normalidade, realizou-se ANOVA em medidas repetidas, seguido de Teste de Tukey para avaliação da interação grupo *versus* momento. Já para os dados que apresentaram distribuição assimétrica, adotou-se ajuste em um modelo com distribuição *gamma*, seguindo-se o teste de comparações múltiplas de Wald para a interação grupo *versus* momento. O nível de significância estabelecido é de 5% ($p < 0,05$). O programa utilizado foi o programa SAS *for Windows* versão 9.2.

3. RESULTADOS

Parâmetros Intra-operatórios

Na abordagem videolaparoscópica, observou-se maior tempo de procedimento necessário para o controle aórtico em relação à cirurgia aberta (** $p<0,01$) e a abordagem endovascular (***) $p<0,001$). Em todos os grupos experimentais, houve queda significativa da temperatura corporal em relação aos níveis basais, ao longo do tempo, sendo menor para o grupo endovascular. Não houve diferença na saturação periférica de oxigênio. Durante o acesso aórtico (M2), houve redução da pressão arterial apenas no grupo cirurgia aberta ($p<0,01$).

Todos os grupos experimentais apresentaram queda pronunciada da pressão arterial média após a imediata liberação do fluxo aórtico (M3), sendo que a recuperação dos níveis pressóricos após 30 minutos (M4) foi significativamente maior no grupo videolaparoscopia quando comparada ao grupo cirurgia aberta ($p<0,01$)

Houve queda na diurese durante o período de clampeamento em todos os grupos. Calculando-se o volume urinário intra-operatório total corrigido pelo peso corporal, notou-se que esta variável foi significativamente maior no grupo endovascular, quando comparado ao grupo cirurgia aberta ($p<0,05$) e videolaparoscópica ($p<0,01$). O débito urinário do grupo EV foi superior aos dos demais grupos ao longo do experimento. Observou-se maior necessidade de reposição de volume plasmático no grupo cirurgia aberta ($p<0,01$) e videolaparoscópica ($p<0,05$) em relação ao grupo submetido a abordagem endovascular. Não houve diferença estatisticamente significativa ao se comparar

os grupos submetidos à cirurgia aberta e videolaparoscópica, ainda que maiores volumes de reposição tenham sido requeridos no grupo submetido à cirurgia aberta (Figura 1).

Avaliação dos Parâmetros Hematimétricos

O Hematócrito (Ht) manteve-se constante ao longo de todo o procedimento entre os grupos, sem queda significativa nos níveis de Hemoglobina (Hb). (Tabela 1).

Avaliação Bioquímica Plasmática e Urinária

A glicemia, glicosúria, sódio plasmático, potassemia, osmolaridade plasmática e dosagens de uréia e creatinina no sangue bem como sódio e potássio urinários mantiveram-se constantes ao longo do procedimento, sem diferença entre os grupos (figuras 2 e 3).

Da mesma forma, não foram encontradas diferenças significantes no *Clearence* de Creatinina calculado ao final do período operatório, quando se comparou as diferentes técnicas cirúrgicas, porém os valores obtidos para o grupo EV foram significativamente maiores e foram menores em L ($p=0,06$). (Figura 4).

Dosagem Plasmática da Cistatina C

Observou-se elevação dos níveis de Cistatina C em relação ao nível basal apenas no grupo EV ($p < 0,05$) (Figura 5), o que corresponde à possível queda no Ritmo de Filtração Glomerular (RFG). Não foram encontradas diferenças

significantes no RFG-Larsson ao final do período operatório quando se comparou as diferentes técnicas cirúrgicas.

Avaliação do Extresse Oxidativo Sistemico

A pesquisa da Atividade da Glutathione Peroxidase (nmol/min/ml) foi negativa, ou seja, sem atividade enzimática detectável em todos os grupos. A concentração de Malondialdeído foi maior no grupo Cirurgia Aberta ($p < 0,05$) quando comparado aos demais grupos (Figura 6A). A concentração de Glutathione Reduzida foi maior no grupo EV ($p < 0,05$), quando comparado aos outros grupos experimentais. (Figura 6B).

Avaliação do Extresse Oxidativo Tecidual Renal

Para ambas as variáveis, foram identificados maiores valores no grupo C ($p = 0,07$), embora sem significância estatística (Figura 7 A e B).

Avaliação Histológica dos Rins

A análise das amostras de rins direito e esquerdo pela H&E e PAS revelaram alterações isquêmicas discretas em todos os grupos avaliados, com maior frequência no grupo laparoscopia.

A maioria dos casos apresentou lesão tubular, sendo raros os casos de aspecto normal. Os parâmetros observados foram descamação celular, degeneração

microvacuolar, adelgaçamento do epitélio tubular, dilatação tubular e formação de cilindros (Figura 9). A coloração especial de PAS permitiu a identificação da borda em escova do epitélio tubular renal. A perda da borda em escova está relacionada a alterações isquêmicas, como nos distúrbios agudos do transporte de fluido transepitelial da isquemia aguda. Neste parâmetro, não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,67$) entre os grupos analisados. A necrose celular tubular sinalizada pelos núcleos picnóticos que indicam morte celular foi observada focalmente em raros casos (Figura 10).

Alterações isquêmicas glomerulares e intersticiais não foram observadas. A degeneração vacuolar apical, presente em todos os casos, possivelmente foi um artefato consequente ao processo de conservação em fixador formol tamponado a 10%.

4. DISCUSSÃO

O suíno tem importantes características próprias que o destacam como modelo de técnica e pesquisa cirúrgica²⁶⁻²⁸. O sistema cardiovascular do suíno é similar ao humano em termos morfológicos e fisiológicos e com vasa vasorum verdadeiro na aorta²⁹. Os protocolos anestésicos para os procedimentos experimentais em suínos devem ser selecionados considerando o potencial de complicações fisiológicas para o experimento^{30, 31}. Desta maneira, os anestésicos inalatórios são as medicações de escolha para a anestesia geral em suínos, pois promovem melhor controle de plano anestésico e de analgesia, mantendo seguramente o animal no plano adequado para procedimentos cirúrgicos de maior porte, ainda que causem depressão dose-dependente da contratilidade miocárdica³¹. Utilizou-se o Isoflurano, agente de primeira escolha como anestésico inalatório em suínos até o momento, uma vez que possui significativamente menos efeitos deletérios sobre a função miocárdica^{26, 31}.

Os acessos para interrupção do fluxo aórtico variam em grau de invasidade, mas todos cursam com alterações hemodinâmicas e potenciais efeitos deletérios sobre a função renal^{13, 14}, o que motivou a proposta deste experimento. Faltam estudos comparando estes acessos^{11, 16} e sobre as possíveis vantagens e limitações de cada técnica¹.

A cirurgia aórtica convencional requer laparotomia e períodos de pinçamento/desdespinçamento aórtico e, os resultados obtidos no presente experimento são condizentes com o que se observa na prática clínica. A laparotomia, apesar de ser relativamente rápida, provocou significativa dificuldade em manter a temperatura corporal e exigiu significativamente maior reposição de cristaloides para reposição de volume neste grupo em comparação com os demais, sem aumento

correspondente no débito urinário. Ademais, estudos prévios revelaram que as perdas hídricas e clampeamento da aorta infrarrenal seriam fatores de risco na patogênese da disfunção renal^{31, 32}, mediada por aumento da resistência vascular do parênquima renal e redução do fluxo para o córtex renal^{25, 33, 34}.

A técnica de cirurgia aórtica videolaparoscópica demanda prolongada curva de aprendizado^{15, 23, 35}. No presente estudo, apesar de treinamento técnico em estudo piloto e em simuladores, a equipe de cirurgia demandou tempo operatório inicial significativamente maior neste grupo em comparação aos demais. Porém, com experiência adquirida esse tempo foi reduzido. Os animais submetidos à abordagem laparoscópica apresentaram débito urinário menor que os dos outros grupos experimentais, sendo significativamente menor que o grupo endovascular. Esta alteração foi provavelmente causada pelo pneumoperitônio (PP)^{7, 23, 24}. O tempo prolongado de PP poderia provocar redução do fluxo sanguíneo para cava e vasos renais contribuindo para redução do volume urinário.^{36, 37} É possível que com equipe muito treinada, os efeitos do PP pudessem ser menores neste experimento.

A cirurgia endovascular também necessita de oclusão temporária do fluxo aórtico pela insuflação do balão de acomodação após liberação do dispositivo³⁸. O tempo de oclusão nestes procedimentos obviamente costuma ser muito menor que nas cirurgias abertas ou videolaparoscópicas e destaca-se como uma das grandes vantagens do método em relação aos demais. Contudo, o prolongamento da insuflação do balão no presente experimento, em tempo similar aos demais grupos, teve a finalidade de simular situações em que o balão necessite permanecer insuflado por tempo maior que o habitual, como em casos de tratamento de complicações de procedimentos endovasculares aórticos (desabamentos de endopróteses, etc) ou nas roturas.^{39, 40} No presente estudo, houve aparente vantagem do tratamento

endovascular no que tange à manutenção da temperatura corporal e menor perda líquida, visto que os animais deste grupo necessitaram de menor reposição volêmica e apresentaram maior débito urinário no intra-operatório. Sugere-se assim que a ausência de laparotomia e da manipulação intra-abdominal poderiam ser a grande vantagem deste tipo de abordagem⁴¹⁻⁴³.

A invasividade do trauma cirúrgico foi estimada também pela quantificação de biomarcadores de estresse oxidativo no plasma. O estresse oxidativo pode ser quantificado através de dosagens de diversos biomarcadores, sendo feito pela quantificação direta dos radicais livres, pela dosagem dos produtos finais originados pela lesão oxidativa ou pelos níveis individuais ou totais dos antioxidantes^{11, 12}. Como exemplos, podemos citar a dosagem de Malondialdeído (MDA), um subproduto da peroxidação lipídica, bem como os componentes do sistema de defesa antioxidantes (SDA), como a Glutathiona Reduzido (GSH), a Glutathiona Peroxidase (GSH-Px), a Glutathiona Redutase (GSH-Rd) e o Superóxido Dismutase (SOD). Existem evidências significantes que o estresse oxidativo e o aumento da resposta inflamatória estão presentes em pacientes submetidos à cirurgia aórtica eletiva¹². Esse fato acontece devido ao consumo de antioxidantes pela intensa produção de metabólitos oxidados acarretando em peroxidação lipídica¹¹. A lesão de isquemia e reperfusão (IRI) provoca resposta inflamatória e lesão em órgãos-alvo. A reperfusão do tecido isquêmico desencadeia resposta inflamatória proporcional ao tempo de isquemia, à extensão da lesão e à capacidade adaptativa do paciente^{10, 11}. Os tecidos lesados por isquemia perdem a capacidade de controlar o metabolismo do oxigênio, resultando em metabolismo celular anaeróbico⁴². Este é decorrente da produção de radicais livres de oxigênio como resposta à lesão de isquemia e reperfusão e ao consumo dos oxidantes endógenos¹¹. O método de dosagem de Malondialdeído tem sido usado

para estimar “*in vivo*” a peroxidação lipídica provocada pelos radicais livres⁴⁵. Quantificou-se, também, a concentração de Glutathione (GSH), um dos agentes centrais do sistema de defesa celular antioxidante endógeno¹⁰. A peroxidação lipídica e redução da capacidade antioxidante foram mais proeminentes no grupo C, condizente com o maior trauma cirúrgico e, conseqüentemente, ao maior estresse oxidativo sistêmico e lesão inflamatória, conforme já apontado na literatura.^{12, 38, 46}

Realizou-se também a avaliação do estresse oxidativo tecidual em amostras de rim, para uma avaliação mais sensível das mesmas *in loco*¹². Observou-se assim maior lesão oxidativa tecidual renal no grupo C, denotando que a invasividade do trauma operatório foi mais importante neste grupo.

A monitorização da função renal em cirurgia aórtica costuma ser feita apenas pela medida da diurese. A creatinina é um marcador que se eleva tardiamente no sangue de pacientes portadores de Doença Renal Crônica e/ou Insuficiência Renal Aguda². Assim, esta medida, isoladamente, parece ter pouco valor como marcador da função renal nos períodos intra e pós-operatório precoce, sendo preferível, a avaliação do ritmo de filtração glomerular (RFG) e da função do túbulo renal². O RFG é definido como a capacidade renal de depurar uma substância a partir do sangue e é expressa como o volume de plasma que pode ser completamente depurado na unidade de tempo⁴⁷. A avaliação do RFG é feita através da dosagem de creatinina plasmática ou estimada por meio de fórmulas. A Cistatina C, por outro lado, é um marcador endógeno da função renal que possui produção estável proveniente de todas as células nucleadas. É totalmente filtrada e eliminada pelo rim independentemente de sexo, idade, estatura e assim, prescinde do volume urinário para avaliar o RFG. Nas cirurgias da aorta abdominal pode haver necessidade de grandes reposições volêmicas e hemodiluição dos marcadores, o que poderia causar

viéses no diagnóstico da insuficiência renal aguda, justificando a avaliação da função renal neste estudo; para maior sensibilidade, o RFG foi calculado por meio dos dois principais marcadores do RFG, a creatinina e a Cistatina C plasmática.⁴⁸⁻⁵⁰. O volume total de urina eliminado pode ser analisado por dois componentes: *Clearence* Osmolar e *Clearence* de Água Livre. O *Clearence* Osmolar corresponde ao volume de urina que contém os solutos em uma concentração igual ao do plasma; o *Clearence* de Água Livre corresponde ao volume de água livre de soluto excretado por unidade de tempo, referindo-se à quantidade de água livre de solutos que torna a urina diluída. Em última análise, através da estimativa da depuração de água livre, pode-se avaliar a capacidade dos rins de diluir ou concentrar urina, podendo estar sujeito a alterações nas lesões agudas⁴⁷. Apesar de débito urinário ter sido significativamente maior nos animais do grupo EV, houve maior elevação de Cistatina C neste grupo no final do período experimental. Além disso, no grupo EV houve *Clearence* de Água Livre predominantemente positivo, sugerindo tendência à produção de urina hiperosmótica, o que pode ser entendido por possível lesão renal aguda. Dessa maneira, as alterações renais do grupo EV estariam relacionadas principalmente à administração do meio de contraste uma vez que não houve lesões histológicas isquêmicas ou oxidativas que justifiquem as alterações funcionais observadas⁵¹⁻⁵³.

À lesão renal aguda associada à injeção intravascular de meios contrastes iodados nomeia-se Nefropatia Induzida pelo Contraste (NIC) e é definida por piora da função renal 2 a 7 dias após a administração do agente, sem outra causa identificável para IRA. Tem patogênese ainda não totalmente esclarecida, mas a alteração de fluxo renal frente sua viscosidade^{54, 55} e por resposta vasomotora⁵⁶ das artérias intrarrenais tornam os rins suscetíveis à lesão, além de exercer efeito tóxico direto nos túbulos

renais⁵⁵. Recente revisão mostrou incidência de 28% de NIC seguindo-se ao EVAR⁵⁶,⁵⁷, porém o fator preponderante para o seu desenvolvimento seria a alteração de função renal pré-operatória e não a dose do agente^{58, 59}.

As alterações morfológicas renais encontradas foram discretas, aspecto habitual de isquemia transitória. Um limitador do estudo foi o tempo curto entre o tempo de reperfusão e óbito. Talvez se houvesse um tempo mais prolongado iríamos encontrar alterações renais mais intensas. A dilatação tubular e o adelgaçamento do epitélio tubular foram difusos, sendo mais frequentes e intensas nos grupos L e EV. Como não foram encontradas áreas de isquemia pronunciada, utilizou-se a coloração especial de PAS para avaliar a borda em escova do epitélio tubular e presença de vacúolos em base e ápice celular. Essas alterações foram mais frequentes, porém sem diferença estatisticamente significativa, nos grupos L e EV. É possível que o uso de pneumoperitônio no grupo L ou de contraste no grupo EV tenha contribuído na gênese destas lesões renais. O pneumoperitônio causaria compressão do parênquima renal^{60, 61}, levando a “perinefrite constrictiva”^{7, 62}.

5. CONCLUSÃO

A laparotomia com manipulação visceral apresentou aumento do estresse oxidativo sistêmico, da lesão oxidativa renal e das consequentes repercussões hemodinâmicas, em relação aos acessos laparoscópico e endovascular. Nas técnicas videolaparoscópica e endovascular, houve discretas alterações estruturais renais, provavelmente associadas respectivamente ao pneumoperitônio e ao meio de contraste. O acesso endovascular se associou ao aumento de Cistatina C, que é um biomarcador de lesão renal aguda, possivelmente também decorrente da administração de meio contraste. Desta maneira, sugere-se que as três técnicas tem todas vantagens e limitações peculiares e assim são complementares e não concorrentes entre si, sendo que seu emprego seletivo, considerando a melhor estratégia terapêutica para cada paciente, poderia oferecer melhores resultados cirúrgicos, com menor morbimortalidade perioperatória.

6. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Processo 2012/50159-3) pelo auxílio financeiro, ao Zootecnista Ednelson Henrique Bianchi pelo suporte técnico, técnicos do laboratório experimental (UNIPEX da FMB-UNESP, ao Douglas de Jesus Jacinto Pinto pelo auxílio na formatação de textos, gráficos e figuras e ao Escritório de Auxílio à Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP pela análise estatística.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coscas R, Maumias T, Capdevila C, Javeliat I et al. Mini-invasive Treatment of Abdominal Aneurysms: Current Roles of Endovascular, Laparoscopic and Open Techniques. *Ann Vasc Surg.* 2014; 28:123-31.
 2. Posner M, Gelman S. Pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. *Clinical Anaesthesiology.* 2000; 14(1):143-60.
 3. Wald R, Waikar SS, Liangos O et al. Acute Renal Failure after endovascular vs open repair of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2006; 43(3):460-6
 4. Pirgakis KM, Makis K, Dalainas I, Lazaris AM, Maltezos CK, Liapis. Urinary Cystatin C as an early biomarker of Acute Kidney Injury after open and endovascular abdominal aortic aneurysms repair. *Ann Vasc Surg.* 2014; 28(7):1649-58.
 5. Harris JR, Fan CM, Geller SC, Brewster DC, Greenfield AJ, Santilli JG, Waltman AC. Renal perfusion defects after endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Interv Radiol.* 2003; 14:329-33.
 6. Struthers AD, Cuschieri A. Cardiovascular consequences of laparoscopic surgery. *Lancet.* 1998; 352:568-70.
 7. Quevedo AIL, Revilla FJB, Sanz JJV, Romero JZ, Santos JP, Letosa RM, Sanches BC, Gorospe CC. Analisis comparative de las modificaciones hemodinamicas y del flujo sanguineo renal (FSR) durante la nefrectomia abierta y laparoscopica. Modelo experimental. *Actas Urol Esp.* 2007; 31(4): 382-93.
 8. Walsh SR, Tang TY, Boyle JR. Renal consequences of endovascular abdominal aortic repair. *J Endovasc Ther.* 2008; 15(1):73-82.
-

-
9. Abdelhamid MF, Davies RS, Vohra RK, Adam DJ, Bradbury AW. Assessment of renal function by meas of Cystatin C following standat and fenestrated endovascular aneurysm repair. *Ann Vasc Surg.* 2013; 27: 708-13.
 10. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta.* 2001; 306:1-17.
 11. Cornu-Labat G, Serra M, Smith A, McGregor WE, Kasirajan K, Hirko MK, Turner JJ, Rubin JR. Systemic consequences of oxidative stress following aortic surgery correlated with the degree of antioxidant defenses. *Ann Vasc Surg.* 2000; 14: 31-6.
 12. Arsalani-Zadeh R, Ullah S, Khan S, MacFie J. Oxidative stress in Laparoscopic versus Open Abdominal Surgery: A Systematic Review. *J Surg Res.* 2011; 169: e59-e68.
 13. Westman B, Johansson G, Luo JL, Soderlund K, Wernerman J Hammarqvist. Effects on skeletal muscle Glutathione Status os Ischemia and Reperfusion following abdominal aortic aneurysm surgery. *Ann Vasc Surg.* 2006; 20: 99-105.
 14. Whelan RL, Franklin M, Holubar SD et al. Postoperative cell mediated immune response is better preserved after laparoscopic versus open colorectal resection in humans. *Surg Endosc.* 2006; 17:972.
 15. Javeliat I, Capdevila C, Beauchet A et al. Results of Laparoscopic Surgery for Abdominal Aortic Aneurysms in Patients with Standart Surgical Risk and Anatomic Criteria Compatible with EVAR. *Ann Vasc Surg.* 2013; 27(4):412-7.
 16. Nio D, Diks J, Bemelman WA. Laparoscopic Vascular Surgery: A Systematic Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007; 33: 263e-271.
-

-
17. Dion YM, Thaveau F, Fearn SJ. Current modifications to totally laparoscopic "apron technique". *J Vasc Surg* 2003. 38:403-6.
 18. Lima ÉS, Saes D, Abdalla P. Peroxidação lipídica : mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Rev Bras Ciências Farm.* 2001;37:293–303.
 19. Paroni R, De Vecchi E, Cighetti G, Arcelloni C, Fermo I, Grossi A, et al. HPLC with o-phthalaldehyde precolumn derivatization to measure total, oxidized, and protein-bound glutathione in blood, plasma, and tissue. *Clin Chem.* 1995;41:448–54.
 20. Solez K, Racusen LC, Marcussen N, Slatnik I, Keown P, Burdick JF, Olsen S. Morphology of ischemic acute renal failure, normal function, and cyclosporine toxicity in cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Kidney International.* 1993; 43:1058-67.
 21. Solez K, Morel-Maroger L, Sraer JD. The Morphology of “Acute Tubular Necrosis” in Man: Analysis of 57 Renal Biopsies and a Comparison with the Glycerol Model. *Medicine.* 1979; 58(5):362-76.
 22. Suk P, Cundrle Jr J, Hruda J et al. Porcine Model of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm Repair. *E J Vasc Endovasc Surg.* 2012; 43:698-704.
 23. Martin-Cancho MF, Sanchez-Margallo, Soria F et al. Physiological Responses to Different Ischemic Periods during Laparoscopic Infrarenal Aortic Cross-Clamping: Evaluation in an Experimental Animal Model. *Ann Vasc Surg.* 2009, 23(4):506-18.
 24. Martin-Cancho MF, Crisostomo V, Soria F et al. Physiologic Responses to Infrarenal Aortic Cross-Clamping during Laparoscopic or Conventional Vascular Surgery in Experimental Animal Model: Comparative Study. *Anesthesiol Res Pract.* 2008; 1-8.
-

-
25. Alric P, Ryckwaert F, Branchereau P. A Porcine Model of Systemic and Renal Haemodynamic Responses to Infrarenal Aortic Cross-clamping. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003; 25: 72-8.
 26. Swindle MM (ed). *Swine in the Laboratory: Surgery, Anesthesia, Imaging, and Experimental Techniques.* 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis Group; 2007.
 27. Smith AC, Ehler W and Swindle MM. Anesthesia and analgesia in swine. In: Kohn, D.H., Wixson, S.K., White, W.J., and Benson, G.J. (Ed). *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*, New York: Academic Press. 1997, 313–36.
 28. Swindle MM, Makin A, Herron AJ et al. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. *Vet Pathol.* 2012; 49:344-56.
 29. Smith AC, Swindle MM. Preparation of Swine for the Laboratory. *ILAR J.* 2006; 47(4):358-63.
 30. Swindle MM, Smith AC. Comparative anatomy and physiology of the pig. *Scand J Lab Anim Sci.* 1998; 25(1):1-10.
 31. Feitosa EAN, Taha MO, Fagundes DJ et al. Estudo da morfologia renal após oclusão da aorta abdominal infra-renal em ratos. *Rev Col Bras Cir.* 2005; 32(4):178-182.
 32. Chaikof E, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard A, Timaran C, Upchurch Jr G, Vieth F. The care of patients with an abdominal aortic aneurysm: The Society for Vascular Surgery practice guidelines. *J Vasc Surg.* 2009; 50(8S):2S-49S.
 33. Kraus T, Mehrabi A, Angelescu M et al. Characterization of Renal Parenchymal Perfusion during Experimental Infrarenal Aortic Clamping and Declamping with Enhanced Thermodiffusion Electrodes. *Ann Vasc Surg.* 2001; 15: 447-56.
-

-
34. Schouten O, Kok NFM, Boersma E et al. Effects of Statins on Renal Function After Aortic Cross Clamping During Major Vascular Surgery *Am J Cardiol.* 2006; 97:1383–5.
 35. Yoshida RA, Yoshida WB, Kolvenbach R et al. Curva de aprendizado em cirurgia aórtica videolaparoscópica: estudo experimental em porcos. *J VascBr.* 2008; 7:232-8.
 36. Kirsch AJ, Hensle TW, Chang DT, Kayton ML, Olsson CA, Sawczuk IS. Renal effects of CO₂ insufflation: oliguria and acute renal dysfunction in a rat pneumoperitoneum model. *Urology.* 1994; 43:453-9.
 37. Guler C, Sade M, Kirkali Z. Renal effects of carbon dioxide insufflation in rabbit pneumoretroperitoneum model. *J Endourol.* 1998; 12:367-70.
 38. Thompson MM, Nasim A, Sayers RD et al. Oxygen Free Radical and Cytokine Generation During Endovascular and Conventional Aneurysm Repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996; 12:70-5.
 39. Malina M, Vieth F, Ivancev K et al. Balloon Occlusion of the Aorta During Endovascular Repair of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm. *J Endovasc Ther.* 2005; 12:556–9.
 40. Matsuda H, Tanaka Y, Hino Y et al. Transbrachial arterial insertion of aortic occlusion balloon catheter in patients with shock from ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2003; 38:1293-6.
 41. Greenhalgh RM, Brown LC, Kwong GP et al. Comparison of Endovascular aneurysm repair with open repair in patients with abdominal aortic aneurysm (EVAR trial 1), 30-day operative mortality results: randomized controlled trial. *Lancet.* 2004; 364:843-8.
-

-
42. Schermerhorn ML, O'Malley AJ, Jhaveri A, Cotterill P, Pomposelli F, Landon BE. Endovascular vs. open repair of abdominal aortic aneurysms in the medicare population. *N Engl J Med.* 2008; 358:464-74.
43. Chaikof E, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard A, Timaran C, Upchurch Jr G, Vieth F. The care of patients with an abdominal aortic aneurysm : The Society for Vascular Surgery practice guidelines. *J Vasc Surg,* 2009; 50(8S) : 2S-49S.
44. Norwood MGA, Brown MJ, Sayers RD. Ischaemia-Reperfusion Injury and Regional Inflammatory Responses in Abdominal Aortic Aneurysm Repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004; 28:234-45.
45. Kostopanagiotou G, Pandazi A, Andreadou I, Doufas A, Chondroudaki I, Kotsis T, Rizos D, Costopanagiotou, Smyrniotis. Effects of Dopexamine on Lipid Peroxidation Duringg Aortic Surgery in Pigs: Comparision with Dopamine. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005; 30:648- 53.
46. Kolvenbach R, Deling O, Schwierz E, Landers B. Reducing the operative trauma in aortoiliac reconstructions – a prospective study to evaluate the role of vídeo-assisted vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1998; 15:483-8.
47. Bagshaw SM, George C, Dinu I, Bellomo R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23(4):1203-10.
48. Kherterpal S,Tremper KK,Englesbe MJ et al. Predictors of postoperative acute renal failure after noncardiac surgery in patients with previously normal renal function. *Anesthesiology.* 2007; 107:892- 902.
-

-
49. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G – Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40:221-6.
 50. Grubb AO – Cystatin C - properties and use as diagnostic marker. *Adv Clin Chem.* 2002; 35:63- 99.
 51. Davey P, Rose JD Parkinson T, Wyatt MG. The Mid-term effect of bare metal suprarenal fixation on renal function following endovascular abdominal aortic aneurysm repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006; 32:516-22.
 52. Lobato AC, Quick RC, Vaughn PL, Rodriguez-Lopez J, Douglas M, Dietrich EB. Transrenal Fixation of Aortic Endografts:Intermediate Follow-up of a Single-Center Experience. *J Endovasc Ther.* 2000; 7:273-8.
 53. Antonello M, Menegolo M, Piazza M, Bonfante L, Grego F, Frigatti P. Outcomes of endovascular aneurysm repair on renal function compared with open repair. *J Vasc Surg.* 2013; 58(4):886-93.
 54. Liss P, Aukland K, Carlsson PO, et al: Influence of iothalamate on renal medullary perfusion and oxygenation in the rat. *Acta Radiol.* 2005; 46(8):823-39.
 55. Liss P, Persson PB, Hansell P, et al: Renal failure in 57,925 patients undergoing coronary procedures using iso-osmolar or low-osmolar contrast media. *Kidney Int.* 2006; 70:1811-7.
 56. Persson PB, Hansell P, Liss P: Pathophysiology of contrast medium- induced nephropathy. *Kidney Int.* 2005; 68(1):14-22.
 57. Detrenis S, Meschi M, Musini S, et al: Lights and shadows on the pathogenesis of contrast-induced nephropathy: state of the art. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20(8):1542-50.
-

-
58. Guneyli S, Bozkaya H, Cinar C, Korkmaz M, Duman S et al. The incidence of contrast medium-induced nephropathy following endovascular aortic aneurysm repair: assessment of risk factors. *Jpn J Radiol.* 2015; 33(5):253-9. doi: 10.1007/s11604-015-0408-3.
59. Parmer SS, Fairman RM, Karmacharya J, Carpenter JP, Velazquez OC, Woo EY. A comparison of renal function between open and endovascular aneurysm repair in patients with baseline chronic renal insufficiency. *J Vasc Surg.* 2006; 44(4):706-11.
60. Razvi HA, Fields D, Vargas JC, Vaughan ED Jr, Vukasin A, Sosa RE. Oliguria during laparoscopic surgery: evidence for direct renal parenchymal compression as an etiologic factor. *J Endourol.* 1996; 10(1):1-4.
61. Harman PK, Kron IL, McLachlan HD, Freedlender AE, Nolan SP. Elevated intraabdominal pressure and renal function. *Am Surg.* 1982; 19(5):594-7.
62. Hazebroek E, De Bruin R, Bouvy N, Marquet RL, Bonthuis F, Bajema IM, et al. Long-term impact of neumoperitoneum used for laparoscopic donor nephrectomy on renal function and histomorphology in donor and recipient rats. *Ann Surg.* 2003; 237(3):351-7.
-

8. FIGURAS E TABELAS

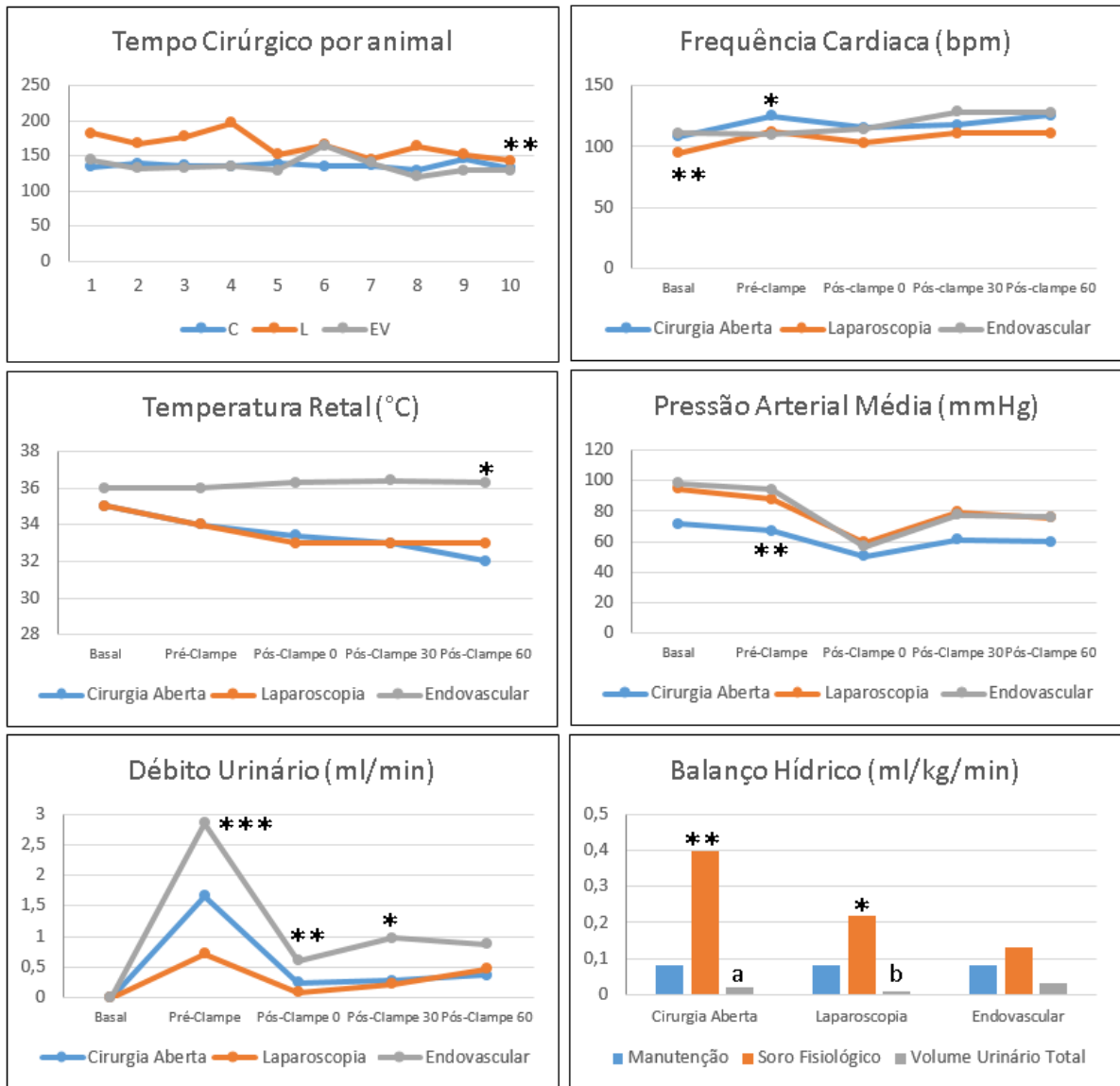


Figura 1. Parâmetros de monitorização intra-operatória.

Tabela 1. Médias e desvios-padrão dos parâmetros hematimétricos durante os momentos de avaliação do período intra-operatório

	Cirurgia Aberta	Laparoscopia	Endovascular
	N=10	N=12	N=12
HEMATÓCRITO (%)			
Basal	26,00 ± 2,79	25,92 ± 2,27	27,11 ± 2,57
Pré-clampe	28,20 ± 3,43	26,92 ± 2,35	28,56 ± 4,82
Pós-clampe 0	27,30 ± 3,33	26,58 ± 3,18	28,11 ± 2,93
Pós-clampe30	30,00 ± 9,84	25,83 ± 3,24	29,22 ± 2,59
Pós-clampe60	27,20 ± 3,97	26,25 ± 3,62	29,56 ± 3,47
HEMOGLOBINA (g/dL)			
Basal	8,04 ± 1,88	7,17 ± 0,87	8,29 ± 0,53
Pré-clampe	8,54 ± 1,67	7,29 ± 0,67	9,12 ± 2,21
Pós-clampe 0	8,10 ± 1,56	7,08 ± 1,15	8,99 ± 1,03
Pós-clampe30	8,72 ± 2,91	6,98 ± 1,00	9,18 ± 1,16
Pós-clampe60	7,83 ± 1,66	7,21 ± 1,12	8,90 ± 0,99

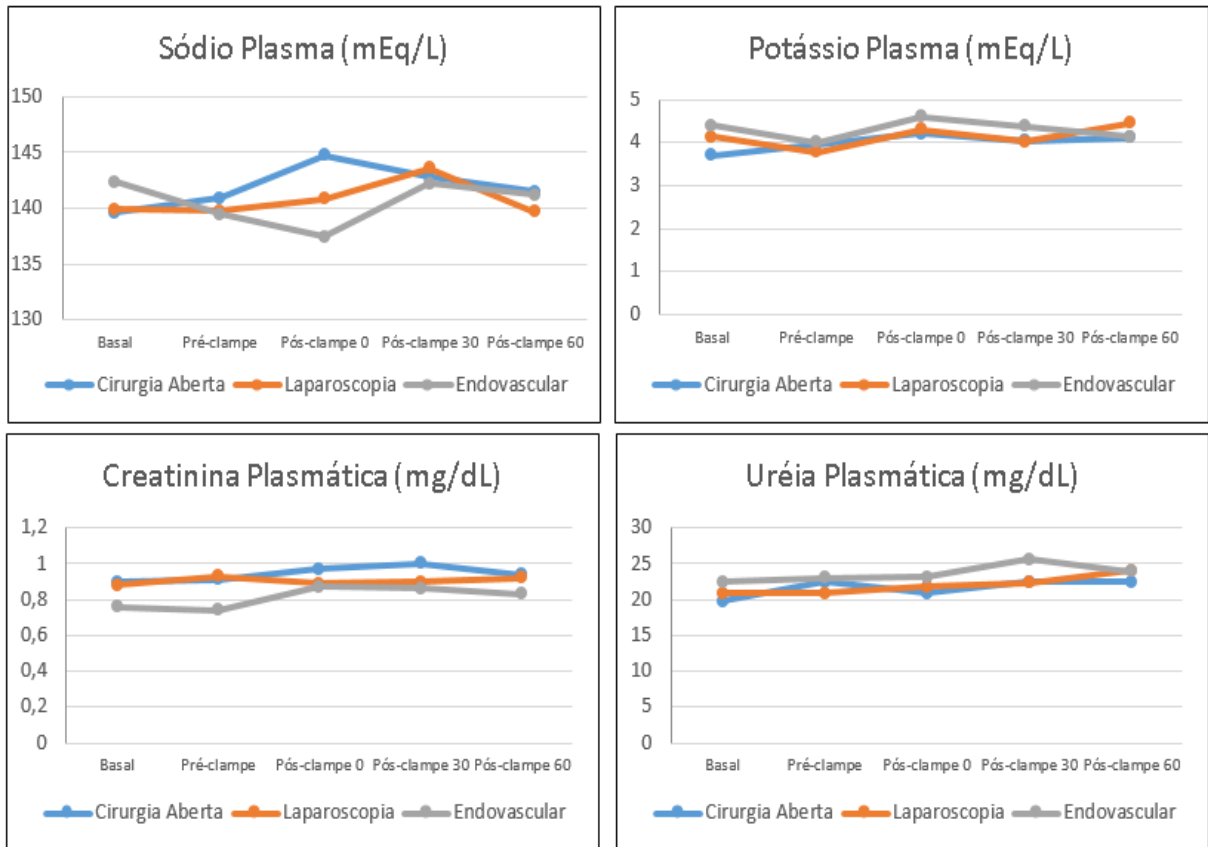


Figura 2. Avaliação eletrolítica e bioquímica plasmática.

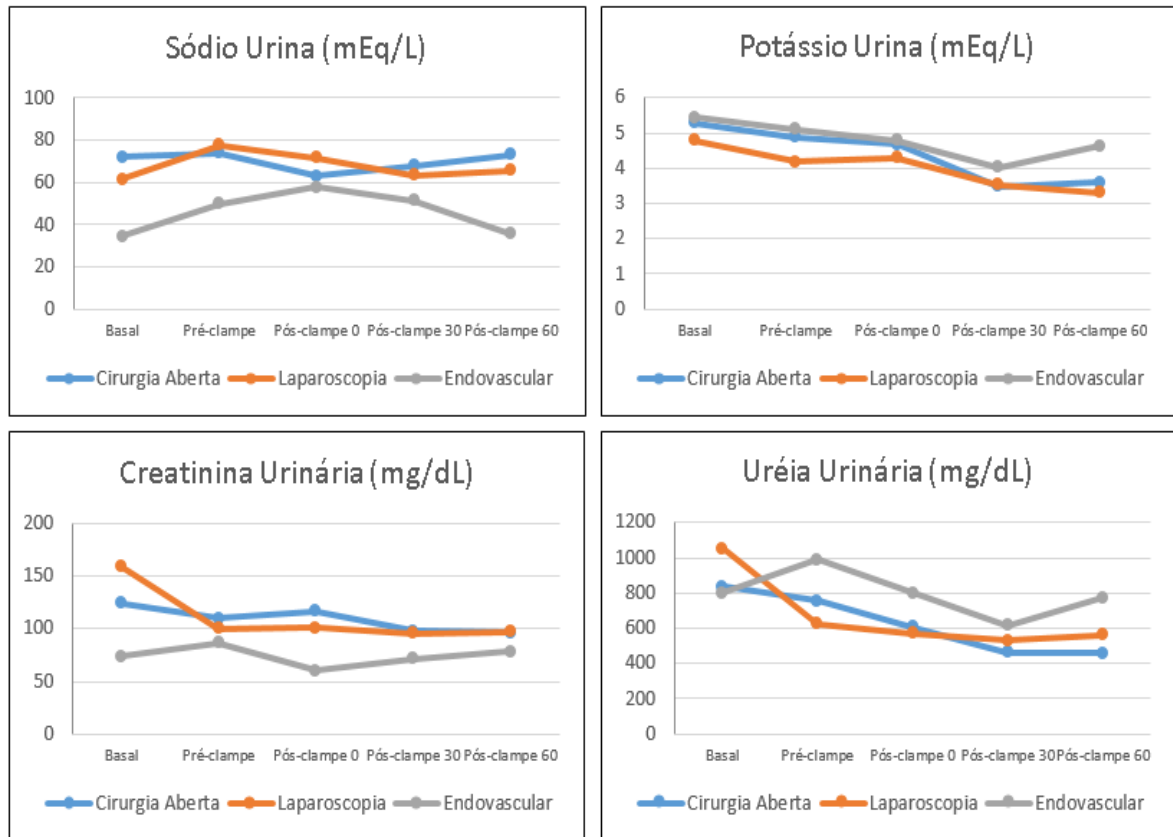


Figura 3. Avaliação eletrolítica e bioquímica urinária.

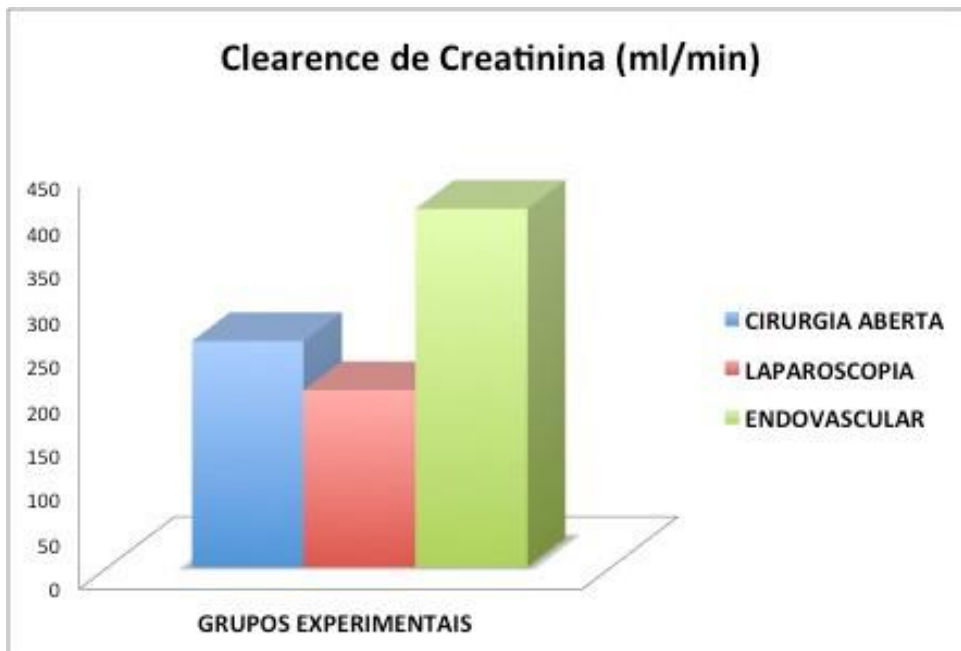


Figura 4. Valores Médios de *Clearance* de Creatinina ao final do período operatório por grupo experimental.

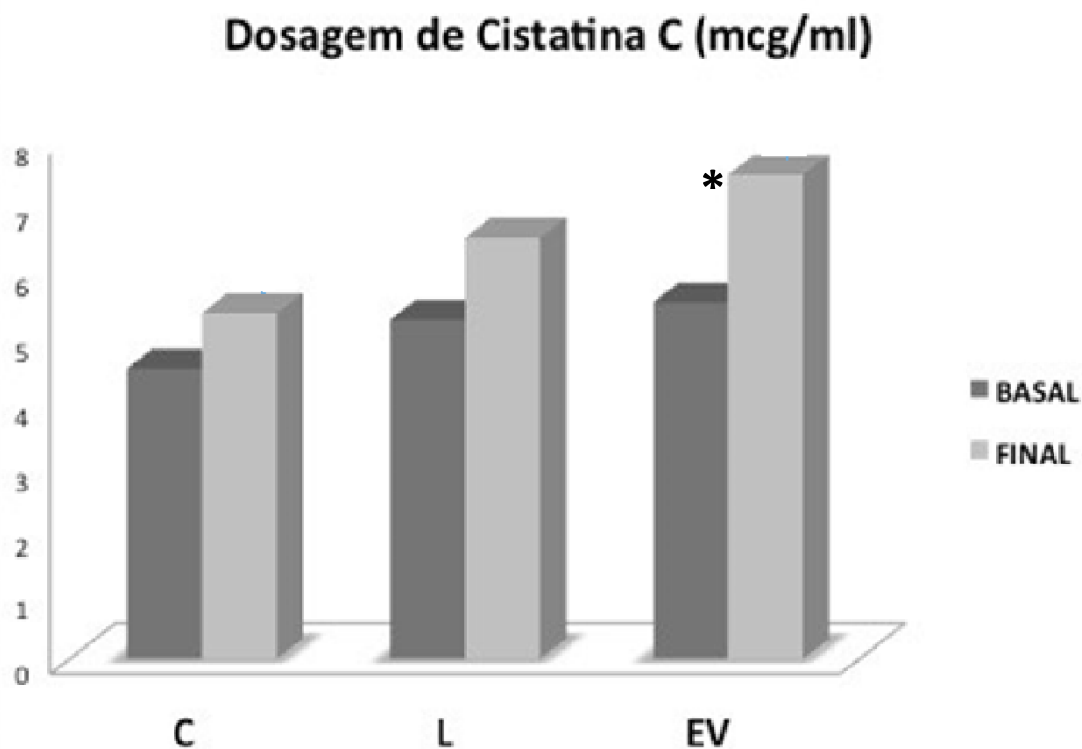


Figura 5. Valores Médios da dosagem plasmática de Cistatina C no momento M1 (basal) e ao término do período operatório (M5) por grupo experimental, observando-se maior elevação de concentração no grupo EV, principalmente quando comparado ao grupo C.

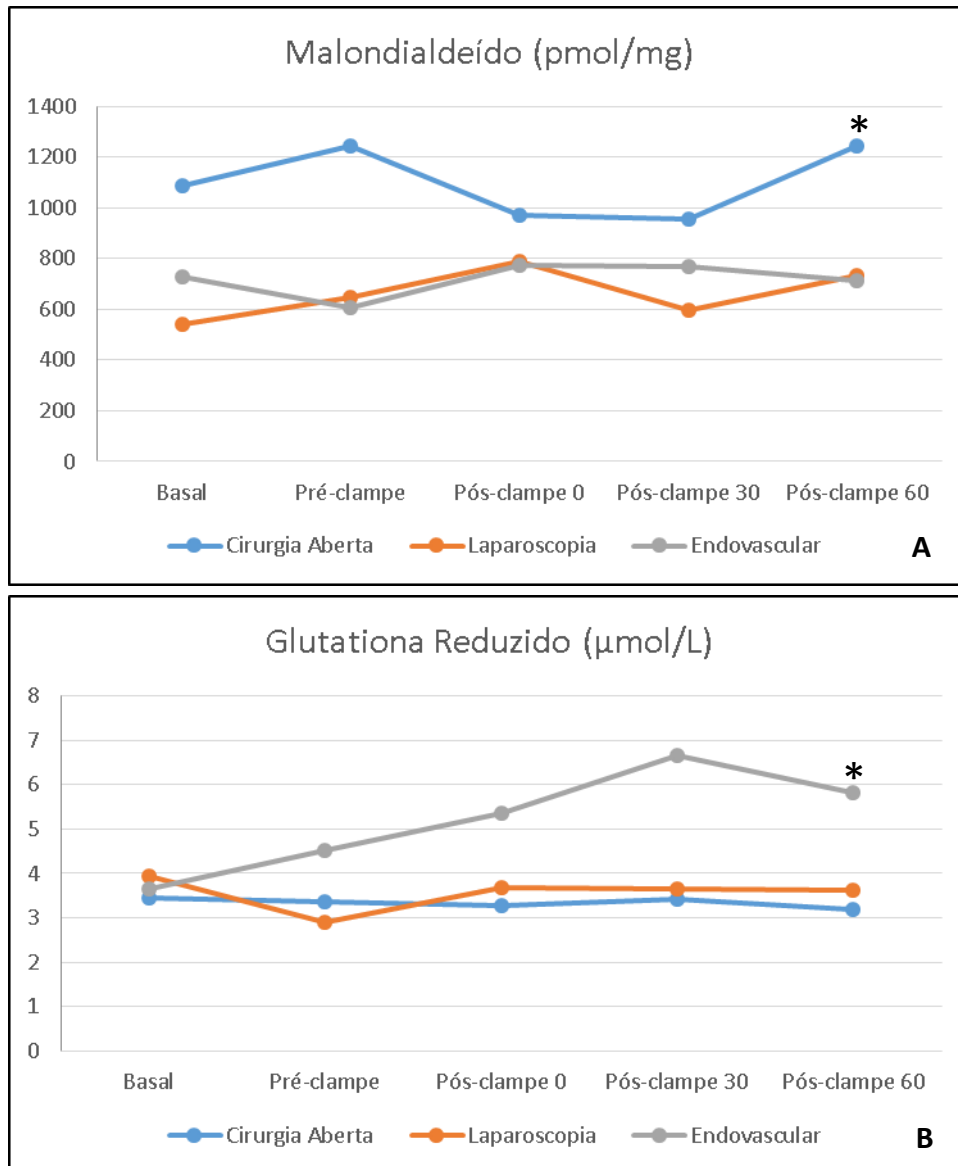


Figura 6. Médias dos marcadores de estresse oxidativo sistêmico.

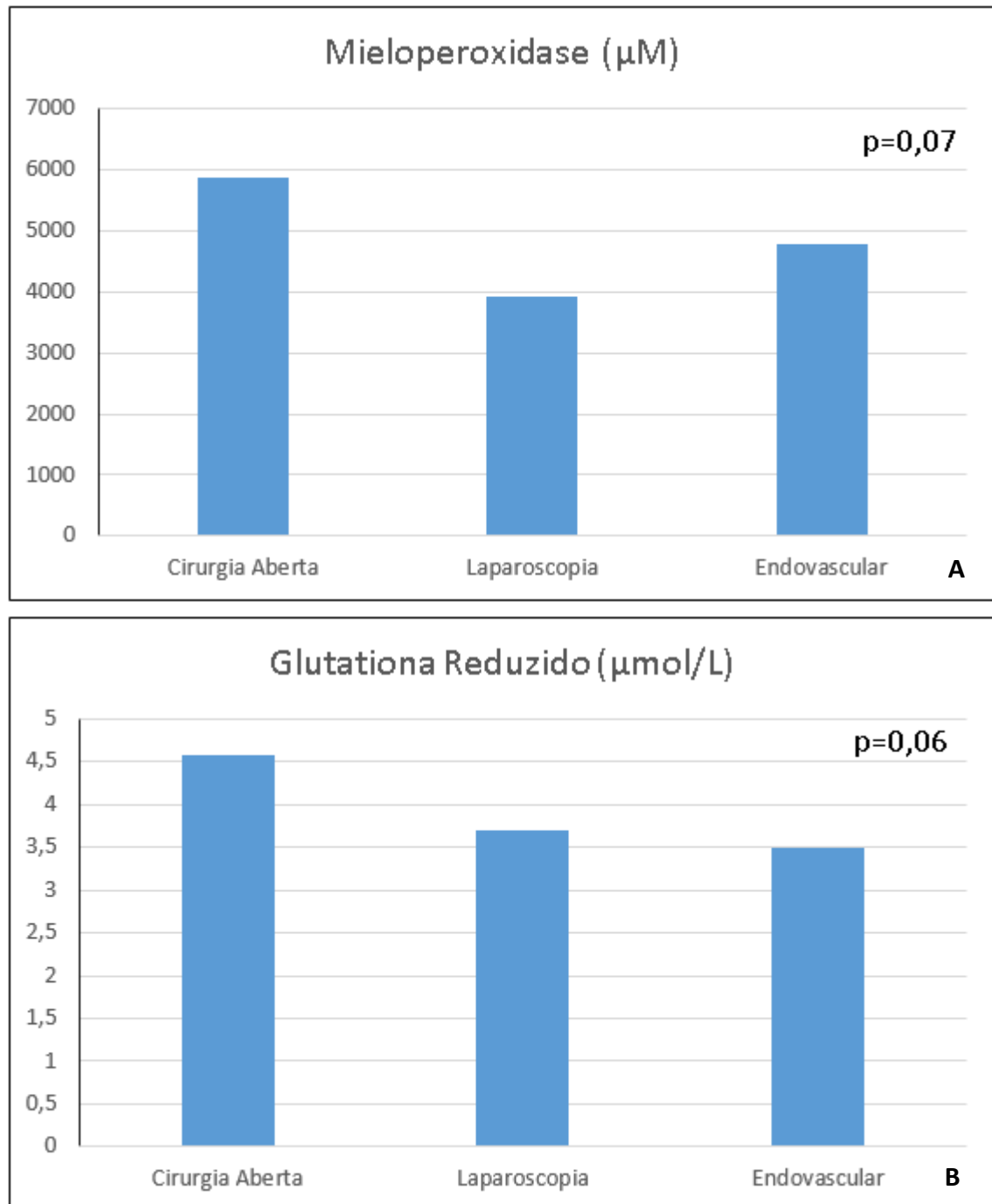


Figura 7. Médias dos marcadores de estresse oxidativo tecidual nos Rins

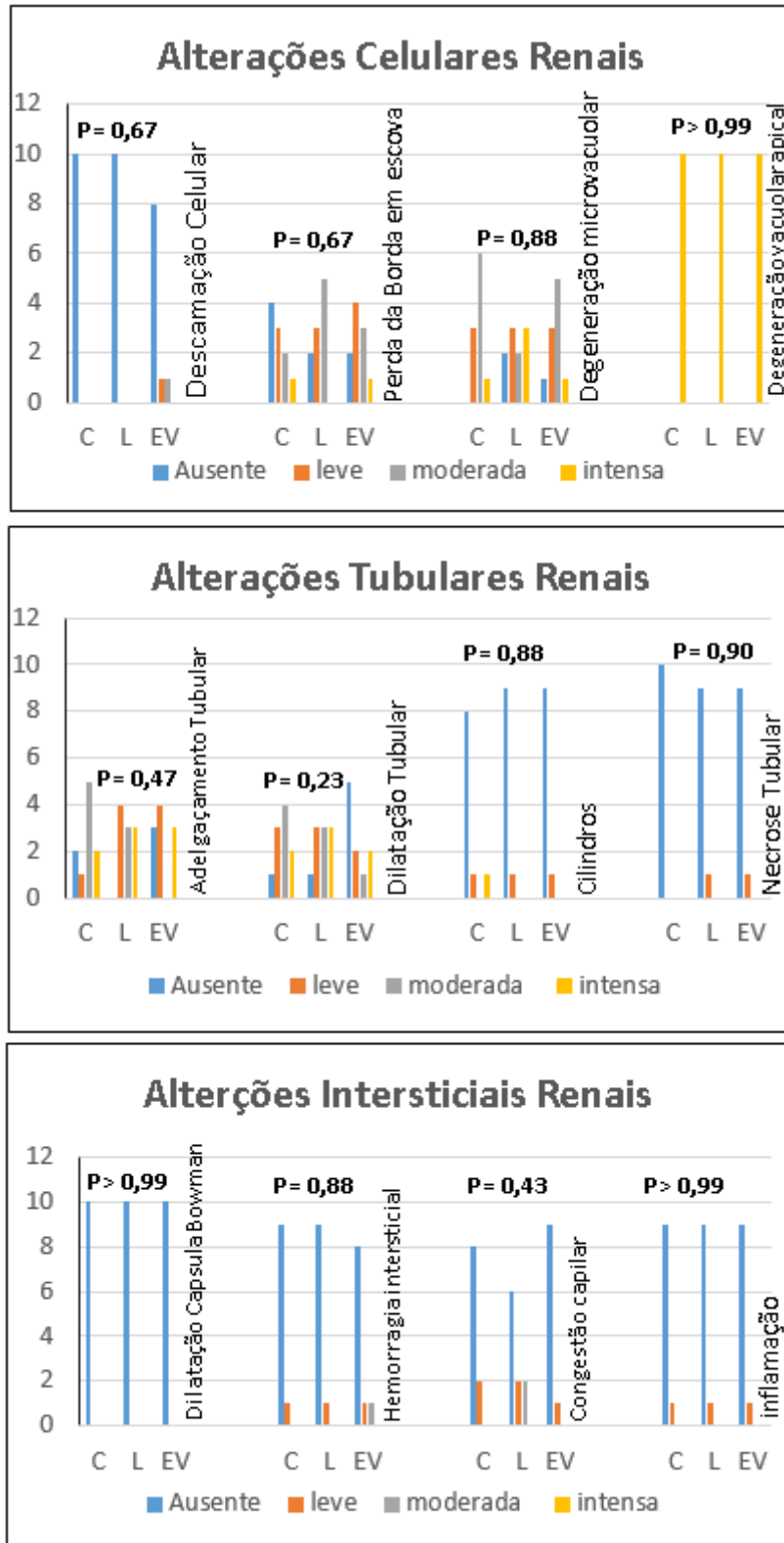


Figura 8. Análise semiquantitativa dos parâmetros morfológicos renais.

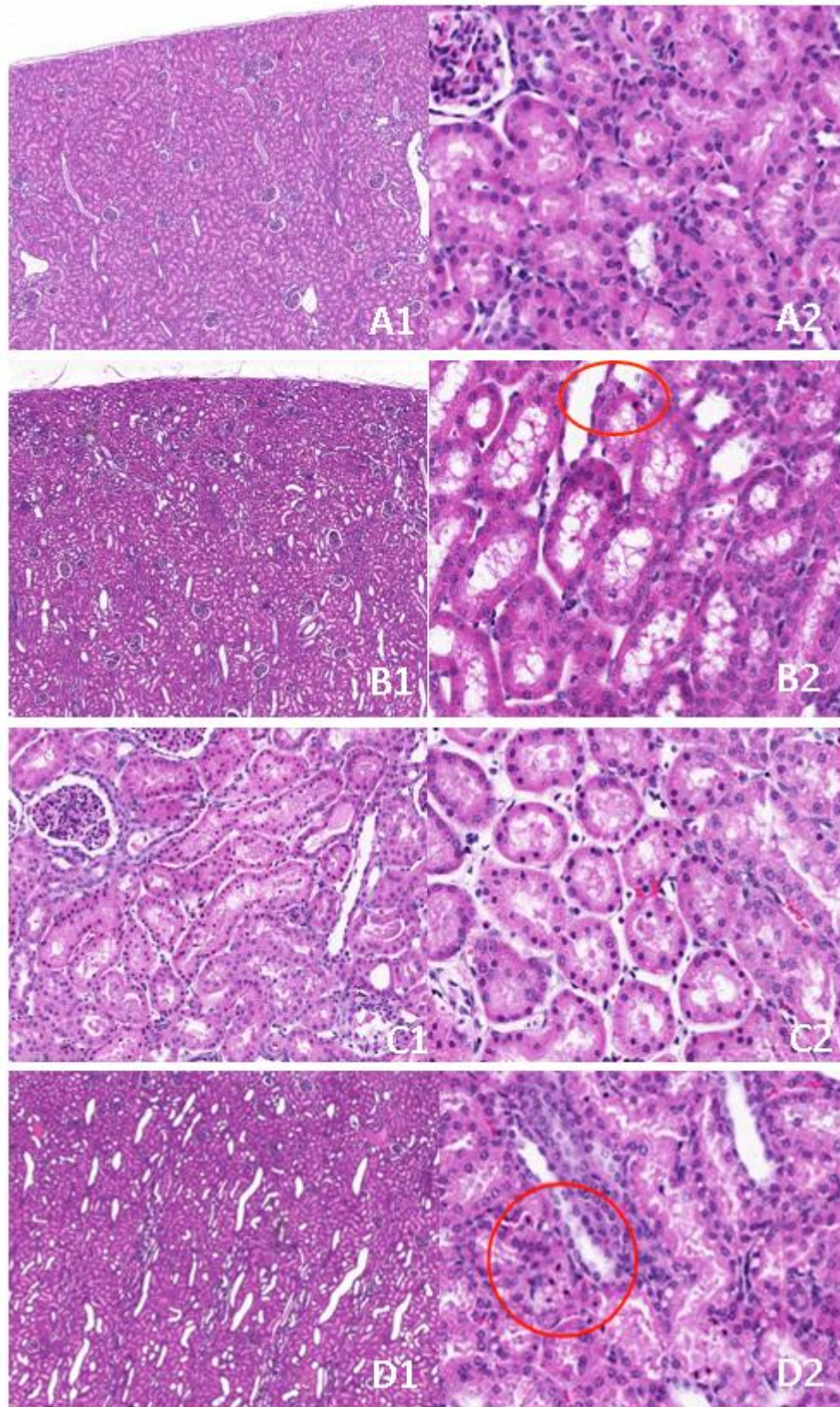


Figura 9. A) Rim com histologia normal. 1. Córtex renal com aspecto habitual (H&E, 50x); 2. Glomérulo e túbulos preservados (H&E, 400x). **B)** 1. Rim com dilatação tubular e adelgaçamento do epitélio tubular (H&E, 50x); 2. Processo degenerativo com vacuolização do ápice celular. No círculo, célula isolada com núcleo picnótico (H&E, 400x). **C)** 1. Rim com necrose tubular focal (H&E, 200x); 2. Adelgaçamento do epitélio tubular associado a núcleos picnóticos (H&E, 400x). **D)** 1. Rim com dilatação tubular e adelgaçamento do epitélio tubular intensos (H&E, 50x). 2. No círculo, presença de necrose celular focal caracterizado por células com núcleos picnóticos e descamação celular (H&E, 400x).

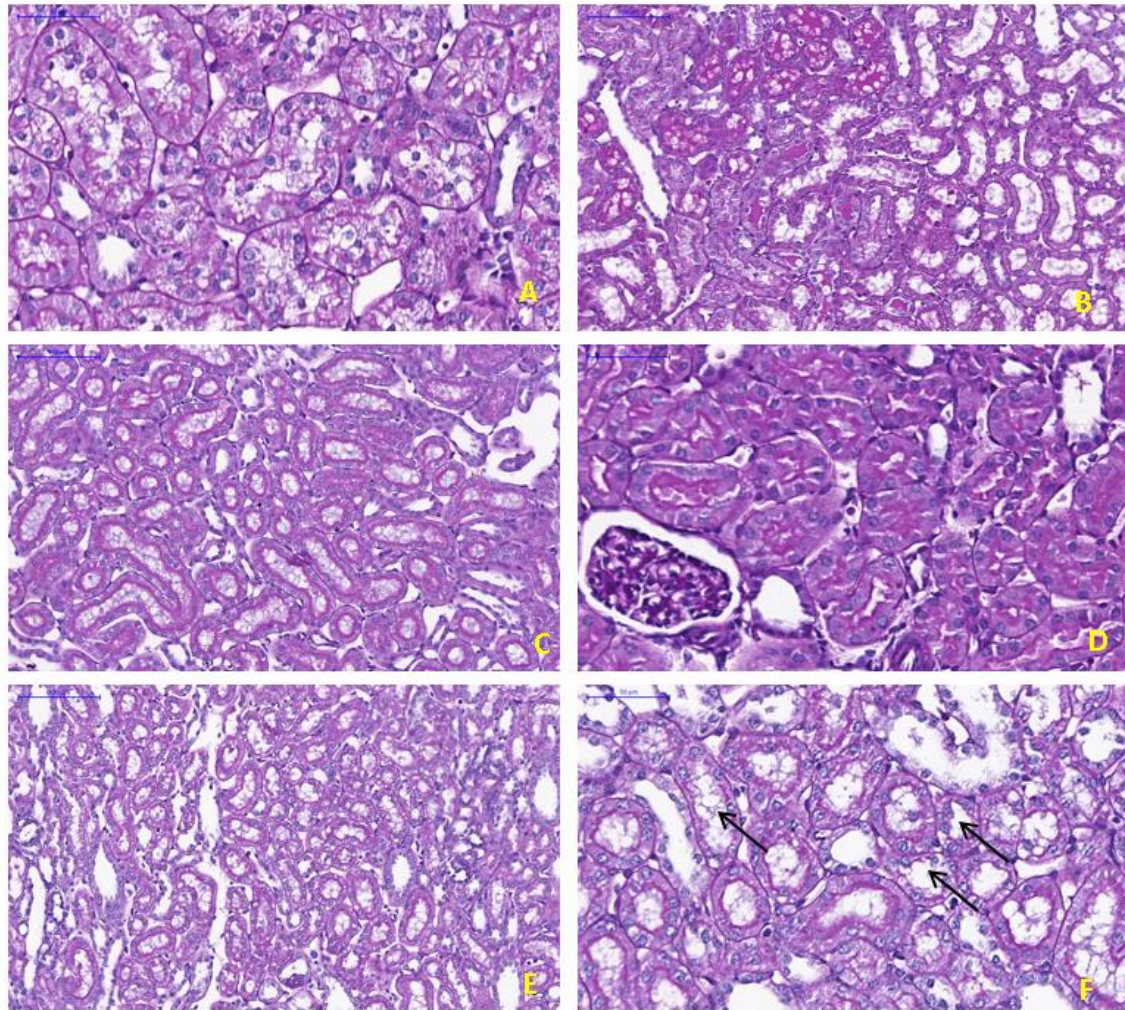


Figura 10. **A)** Secção histológica mostrando células tubulares apresentando irregularidade do bordo apical, com perda da borda em escova, e degeneração vacuolar representada por citoplasma mais claro (PAS, 400x). **B)** Secção histológica mostrando adelgaçamento do epitélio tubular, dilatação tubular e formação de cilindros hialinos intratubulares (PAS, 200x). **C)** Secção histológica mostrando borda em escova tubular preservada, contínua, escore 0 (PAS, 200x). **D)** Estrutura preservada (perda da borda em escova escore 0, dilatação tubular escore 0 e adelgaçamento do epitélio tubular escore 0 (PAS, 400x). **E)** Adelgaçamento do epitélio tubular e dilatação do lumen (PAS, 200x). **F)** Perda da borda em escova (seta) (PAS, 400x).

Artigo 2

**Alterações histopatológicas no cólon esquerdo de porcos
submetidos ao modelo experimental de interrupção de fluxo
aórtico: comparação entre as diferentes vias de acesso à cirurgia
aórtica**

Resumo

Introdução: A colite isquêmica é uma grave complicação da cirurgia da aorta abdominal, estando sua ocorrência e gravidade relacionadas ao paciente e ao trauma cirúrgico-anestésico. Assim, é possível que ocorram diferenças na fisiopatologia da colite isquêmica associadas às diferentes modalidades de tratamento do aneurisma de aorta abdominal. **Objetivos:** Avaliar as alterações histopatológicas em fragmentos de cólon esquerdo de porcos submetidos a modelo experimental de interrupção aguda de fluxo sanguíneo aórtico, comparando as abordagens por laparotomia mediana, cirurgia endovascular e cirurgia videolaparoscópica. **Materiais e métodos:** Trinta porcos, entre 20 e 35kg, foram divididos em 3 grupos de 10 animais: C, com a aorta abdominal clampeada através de laparotomia mediana transperitoneal; L, com a aorta abdominal clampeada através da técnica totalmente laparoscópica; EV, com a interrupção de fluxo da aorta abdominal através da via endovascular por insuflação de balão de oclusão de aorta por acesso femoral. Após 60 min de interrupção do fluxo sanguíneo aórtico e igual tempo de reperfusão, os animais foram sacrificados e uma amostra transversal total do cólon sigmoide, logo acima de deflexão peritoneal, foi retirada para biópsia. Estas foram submetidas à análise histopatológica pelo H&E e pela imunohistoquímica da Caspase-3 por patologista cego para os grupos. **Resultados:** A análise histopatológica mostrou alterações do tipo edema e achatamento dos vilos em dois animais GL e em um animal GEV. Na análise pelo método da Caspase-3 houve maior número de apoptoses e menor número de neurônios nos animais GEV. **Conclusão:** O grupo endovascular teve isquemia de cólon mais intensa, provavelmente relacionada com a maior manipulação endovascular com fios-guias e cateteres o que, por sua vez, pode levar a espasmos e microembolizações no leito arterial. Estudos envolvendo maiores tempos de

isquemia e de reperfusão são necessários para elucidar melhor estes efeitos da interrupção de fluxo aórtico sobre a mucosa colônica.

Descritores: Doenças vasculares, aneurisma da aorta abdominal, Colite Isquêmica, Cólon, laparoscopia, procedimentos endovasculares, Histologia.

Abstract

Introduction: Colonic ischemia is a relatively uncommon but devastating complication of abdominal aortic surgery. Its occurrence and severity is related to operative and anesthetic trauma. Therefore, it is a known complication of all different modalities of treatment of abdominal aortic aneurysm. Objectives: To evaluate histopathological changes in the left colon fragments of pigs subjected to experimental model of acute aortic flow interruption, comparing the approaches by laparotomy, endovascular surgery and laparoscopic surgery.

Materials and Methods: Experiment were performed on 30 female pigs, weight 15-30kg, which were randomly allocated to 3 study groups: C, midline transperitoneal laparotomy for infrarenal abdominal aortic access with 60 min of cross-clamping; L, laparoscopic infrarenal abdominal aortic surgery with 60 min of cross-clamping; EV, remote proximal aortic control with the transfemoral arterial insertion of aortic occlusion balloon catheter which was inflated offering continued aortic occlusion from 60min. After 60 minutes of aortic occlusion and the same time of reperfusion, the animals were sacrificed and a sample of the sigmoid colon, just above the peritoneal deflection was collected. These were submitted for histopathologic analysis by H & E and immunohistochemical by Caspase-3. **Results:** Histopathological analysis showed changes in edema type and flattening of the villi in two animals from L and EV groups. Caspase-3 showed more apoptosis and fewer neurons in EV group. Conclusion: EV group had more severe colonic ischemia, probably related to greater manipulation with endovascular guidewires and catheters which, could lead to spasm and microembolization in small vessels. More studies involving longer times of ischemia and reperfusion may help to elucidate these effects of aortic flow disruption in the colonic mucosal.

Descriptors: Vascular diseases, abdominal aortic aneurysm, Ischemic Colitis, Colon, laparoscopy, endovascular procedures, Histology.

1. INTRODUÇÃO

O Aneurisma de Aorta Abdominal (AAA) infra-renal foi responsável por aproximadamente 13.800 mortes nos Estados Unidos em 2005. A escolha da via cirúrgica mais adequada para o seu tratamento tem sido bastante discutida entre os cirurgiões e envolve fatores como o risco inerente ao procedimento, comorbidades do paciente, morfologia do AAA, expectativa de vida e experiência da equipe cirúrgica¹.

Atualmente, as estratégias disponíveis para o tratamento desta doença incluem a cirurgia aberta convencional, a cirurgia videolaparoscópica e o tratamento endovascular, com as duas últimas opções sendo consideradas menos invasivas². Os tratamentos endovasculares e videolaparoscópicos estão associados com redução da morbidade e mortalidade no perioperatório em relação a cirurgia aberta convencional. No entanto, a literatura carece de estudos clínicos ou experimentais que analisem simultânea e comparativamente estas três vias operatórias na correção do AAA quanto a eficácia e segurança³⁻⁵.

A colite isquêmica foi inicialmente descrita por Marston, em 1966, como uma entidade clínica caracterizada pela insuficiência da circulação sanguínea no cólon, resultando em vários graus de necrose tecidual local e manifestações sistêmicas. Trata-se de uma infrequente, porém grave complicação da cirurgia da aorta abdominal, sendo o cólon sigmóide o segmento mais afetado⁶⁻⁹.

O quadro clínico é habitualmente insidioso, com dor e distensão abdominal. A presença de diarreia sanguinolenta de início recente é considerada o sintoma central¹⁰. Não há marcadores químicos ou enzimáticos específicos para colite isquêmica. A retossigmoidoscopia flexível e a colonoscopia com biópsias são os melhores métodos para o

seu diagnóstico. No entanto, a maioria dos casos é diagnosticada tardiamente, quando já existe necrose transmural extensa e sepse¹¹.

A incidência de colite isquêmica como complicação cirúrgica do AAA é considerada baixa, variando de 1 a 6% dos casos. Entretanto, na maior parte das vezes, trata-se de casos graves, com taxas de mortalidade que atingem até 90%¹². Esta é uma complicação reconhecidamente possível no tratamento dos AAA e sua gravidade também estará relacionada à aspectos próprios do paciente (idade avançada, comorbidades, rotura do aneurisma) e ao trauma cirúrgico-anestésico, como alterações hemodinâmicas, tempo cirúrgico, tempo de clampeamento da aorta, sangramento e sepse⁹. No clampeamento aórtico, pode ser decorrente ou agravada pela oclusão temporária da aorta e conseqüentemente das artérias mesentérica inferior e ilíacas. Sendo assim, é esperado que possam ocorrer diferenças na fisiopatologia e na incidência de colite isquêmica relacionadas às diferentes estratégias de acesso ao tratamento cirúrgico do aneurisma de aorta abdominal^{13, 14}.

Embora haja aparente benefício dos métodos menos invasivos sobre as repercussões sistêmicas do trauma cirúrgico convencional, ainda faltam estudos clínicos e experimentais randomizados que analisem comparativamente as três vias de acesso na correção do AAA (aberta, videolaparoscópica e endovascular) nos seus diversos aspectos, incluindo os eventos de isquemia e reperfusão na mucosa do colônica, que são a base para o entendimento da fisiopatologia da colite isquêmica como uma das complicações pós-operatórias.

O objetivo do presente estudo é avaliar as alterações histopatológicas de fragmentos do cólon esquerdo de porcos submetidos ao modelo experimental de interrupção de fluxo aórtico, comparando as diferentes modalidades de acesso cirúrgico utilizadas para a abordagem da aorta: laparotomia mediana, via endovascular ou videolaparoscópica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Animais de Experimentação

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (Protocolo CEEA 899-2011). Foram estudados 30 porcos, fêmeas, mestiços *Large White x Landrace*, com peso entre 15 a 30kg, provenientes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP (Botucatu-SP). Após período de adaptação entre 5 e 10 dias, os animais foram aleatoriamente divididos (sorteio de papéis opacos dobrados) nos 3 grupos com 10 animais:

- **Grupo C** – Os animais foram submetidos à laparotomia mediana transperitoneal e o fluxo sanguíneo da aorta abdominal infra-renal foi interrompido por 60 minutos com pinça de *De Bakey*.
 - **Grupo L** – Os animais foram submetidos à acesso abdominal videolaparoscópico com pneumoperitônio (16 mmHg) e o fluxo sanguíneo da aorta abdominal infra-renal foi interrompido por 60 minutos por meio de pinça aórtica laparoscópica.
 - **Grupo EV** – Os animais tiveram o fluxo sanguíneo da aorta abdominal infra-renal interrompido por 60 minutos através da insuflação de balão oclisor da aorta infra-renal por acesso femoral remoto.
-

Anestesia

Os animais foram submetidos a 8 horas de jejum pré-operatório. A medicação pré-anestésica utilizada foi: Acepromazina (Acepran® 1%), Quetamina (Cetamin®), Xilazina (Xilazin®) e Morfina (Dimorf®) por via intramuscular. Após 15 minutos da medicação pré-anestésica, a veia central da orelha foi canulada com Jelco 22 G para que se fizesse a indução anestésica por administração de Quetamina e Diazepan (Compaz®). O animal foi então colocado em posição pronada na mesa cirúrgica para intubação orotraqueal. A manutenção anestésica foi realizada com Isoflurano. A ventilação mecânica foi efetuada em aparelho *Takaoka* modelo 2.600 (Nikkei – Brasil). A hidratação basal foi realizada com solução de Ringer Lactato infundida em bomba de infusão intravenosa e completada com a infusão de soro fisiológico 0,9% de acordo com a necessidade hemodinâmica identificada pelo anestesiológista veterinário ao longo do procedimento. Não foi feita descompressão gástrica por sondagem nasogástrica. A monitorização intra-operatória consistiu em oximetria por sensor na língua, termometria corporal transretal e pressão arterial invasiva por cateter posicionado na artéria carótida comum direita. A reposição volêmica intra-operatória foi realizada através de infusão regular de valor padrão de Ringer Lactato para manutenção, e a reposição aguda com soro fisiológico de acordo com a necessidade hemodinâmica julgada pelo anestesiológista veterinário. Realizou-se a quantificação e comparação entre os grupos apenas do volume de cristalóide adicional necessário para manutenção da estabilidade hemodinâmica intra-operatória.

Procedimentos Cirúrgicos

Grupo C (Cirurgia Aberta Convencional): Com animais em posição supina, foi realizada laparotomia mediana e identificada a aorta infrarrenal, a veia renal esquerda cruzando a aorta anteriormente e realizado exposição das artérias renais. Em seguida, clampeada a aorta infra-renal com pinça de *De Bakey*. Durante o clampeamento, as vísceras foram posicionadas na cavidade e a incisão foi coberta por compressas úmidas em soro fisiológico aquecido, visando evitar a tração do mesentério e a hipotermia.

Grupo L (Cirurgia Laparoscópica): Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito. O pneumoperitônio foi iniciado através de punção abdominal. A exposição da aorta iniciou-se através da mobilização medial do cólon esquerdo, do rim esquerdo e da flexura esplênica, utilizando-se de pinças laparoscópicas, tesouras e bisturi harmônico (*Ultracision® – Johnson & Johnson®*). Depois de dissecada a aorta abdominal, foi realizado clampeamento da sua porção infra-renal com pinça aórtica laparoscópica (*Storz*).

Grupo EV (Cirurgia Endovascular) - Os animais foram posicionados na mesa cirúrgica em posição supina. Através de inguinotomia, foi realizada aortografia abdominal com marcação das artérias renais e posterior posicionamento do cateter-balão complacente para oclusão aórtica (*Coda Balloon Catheter®, Cook Medical®, USA*).

Momentos do estudo

Após o período de interrupção do fluxo aórtico (60 minutos) e subsequente reperfusão (60 minutos), os animais foram sacrificados a partir de sobredose dos agentes anestésicos. Em seguida, foi realizada laparotomia mediana para acesso ao cólon esquerdo, e um fragmento transversal circular de parede total do cólon sigmoide, imediatamente acima de deflexão peritoneal, com aproximadamente 1 cm de diâmetro, foi obtido de cada animal.

Histologia e Imunohistoquímica

As amostras foram conservadas em formalina 10%, processadas em Autotécnico Leica TP102 e montadas em blocos de parafina em equipamento Leica EG 1160. Cortes seriados de aproximadamente 5 µm em Micrótomo Leica RM 2155 foram colocados em lâminas de vidro e corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina (H&E) (*EnVision Flex* Hematoxilina, Dako). O método imunohistoquímico da Caspase-3 foi realizada de forma automatizada em cortes histológicos colocados sobre lâminas Flex IHC (Dako), com anticorpo policlonal de coelho anti-Caspase 3 (DBS). Utilizou-se *EnVision Flex* solução de recuperação antigênica, pH baixo, e *EnVision Flex*, mini-conjunto, pH alto. O material foi processado na *Autostainer* Link 48, Dako.

As secções morfológicas foram examinadas com o Sistema de Imagem *Pannoramic Viewer* (Scanner 3DHISTECH Ltd), por patologista, sem conhecimento prévio dos grupos. A análise morfológica pela histologia padrão (H&E) buscou identificar alterações gerais da parede intestinal, sugestivas de isquemia aguda, tais como: necrose da porção superficial da mucosa, atrofia das criptas, presença de pseudomembranas, hemorragia e/ou hialinização da lâmina própria, criptite, abscessos das criptas e segmentos com perfurações da parede¹⁵. Além

disso, esta variável foi quantificada por meio de duas classificações descritas para avaliação de alterações de isquemia e reperfusão intestinais em modelos experimentais, a Classificação de Sonnino¹⁶ (Figura 1) e a Classificação de Park/Chiu (Figura 2).^{17, 18, 19} Através do método da Caspase-3 foram procurados sinais indiretos e precoces de alterações isquêmicas da mucosa intestinal através do número de apoptoses e de neurônios presentes nos plexos nervosos da submucosa de células ganglionares^{20,21}. Esta análise foi quantitativa, estudando-se 5 campos escolhidos aleatoriamente, sob aumento de 200 vezes, totalizando uma área estudada de 5,65 mm² por animal.

Análise Estatística

A comparação entre os grupos para estas variáveis foi realizada através de uma análise de variância (ANOVA), seguida do teste de *Tukey*, após realização de um teste de normalidade. O peso e o comprimento dos animais e os diferentes tempos cirúrgicos entre os grupos foram comparados pelo Teste de *Kruskal-Wallis*. O nível de significância considerado foi de 5% e o programa utilizado foi o *SAS for Windows* versão 9.2.

3. RESULTADOS

Histopatologia Padrão (H&E)

A análise morfológica pela histologia padrão (H&E) não evidenciou áreas de isquemia ou necrose em nenhum dos fragmentos de cólon. Alterações precoces e sutis, como edema da lâmina própria e achatamento das vilosidades foram encontradas em 2 animais grupo L e em um animal do grupo EV (Figuras 3, 4 e 5). Os resultados das análises descritivas e pelas Classificações de Sonnino e de Park & Chiu são apresentadas na Tabela 1¹⁶⁻¹⁹.

Imunohistoquímica pela Caspase-3

A análise dos resultados obtidos através do método imunohistoquímico da Caspase-3 evidenciou alterações morfológicas precoces, que podem ser subsequentes à isquemia aguda, mais frequentemente presentes no grupo experimental endovascular, representadas por um maior número de apoptoses ($2,00 \pm 1,25$; $p= 0,6356$) (Figura 6) e menor número de neurônios nos plexos nervosos submucosos ($5,87 \pm 1,89$; $p= 0,0211$) (Figura 7), conforme demonstrado na Tabela 2.

4. DISCUSSÃO

O porco é amplamente utilizado na pesquisa biomédica, com aumento considerável nas últimas décadas e isso se deve principalmente pela sua grande similaridade fisiológica e anatômica com diversos sistemas humanos²². Por ser animal de maior porte, permite realizar procedimentos, manipulação, monitorização e tratamentos de maneira similar a prática clínica^{23; 24}.

A determinação da via cirúrgica mais adequada frente às opções terapêuticas existentes para a correção das doenças da aorta, particularmente do Aneurisma de Aorta Abdominal (AAA) infra-renal, tem sido tema frequente e atual de discussões^{2, 3, 25}. Dessa forma, a literatura carece de estudos clínicos e experimentais que analisem simultaneamente as atuais opções terapêuticas de cirurgia aórtica, permitindo a investigação das repercussões sistêmicas da interrupção do fluxo aórtico por cada um dos métodos²⁶.

A experiência cirúrgica, a melhor qualidade dos materiais protéticos e de sutura e melhorias nos cuidados perioperatórios e anestésicos fazem da cirurgia convencional para o reparo do AAA um método muito seguro e durável²⁷. No entanto, esta técnica requer incisão e dissecação extensas, clampeamento e desclampeamento aórticos, o que gera períodos variados de isquemia-reperfusão de órgãos e membros inferiores, intensa redistribuição de líquidos, alteração da temperatura central e ativação de fatores neuro-hormonais e inflamatórios²⁸.

A cirurgia aórtica videolaparoscópica foi proposta como alternativa menos invasiva para o tratamento de pacientes portadores de aneurismas de aorta ou doença oclusiva aorto-iliaca²⁹⁻³², firmando-se como técnica pouco invasiva, factível e segura. Considera-se como principal limitação para o desenvolvimento dessa técnica a prolongada curva de aprendizado³³.

No presente estudo, foi necessário o amplo treinamento experimental em animais piloto para o emprego adequado da técnica. Mesmo com treinamento prévio, a equipe executora encontrou dificuldades técnicas na dissecação e o tempo operatório inicial foi significativamente maior neste grupo em comparação aos demais. Porém, assim como observado em outros estudos experimentais^{34, 35}, esse tempo foi decrescente, em função do treinamento. Porém, com equipe bem treinada, o tempo de PP tenderia a ser menor, assim como suas consequências.

A cirurgia endovascular modificou radicalmente o tratamento do AAA infra-renal e consiste no implante endoluminal de uma endoprótese a partir de sítio arterial remoto. Apesar de não haver clampeamento aórtico durante o tratamento endovascular de rotina, há oclusão temporária do fluxo aórtico pelos dispositivos de liberação das endopróteses e pela insuflação do balão de acomodação³⁶. Este tempo de oclusão pode ser significativamente aumentado em condições adversas, como de rotura do AAA ou de outras artérias, até se conseguir a hemostasia³⁷.

As vantagens teóricas deste procedimento seriam evitar a manipulação intra-abdominal e minimizar o tempo de interrupção do fluxo aórtico, possibilitando redução de mortalidade precoce, diminuição do tempo em terapia intensiva e permanência hospitalar, menores perda sanguínea e necessidade de transfusão²⁷.

Pela análise histológica padrão, os fragmentos de cólon esquerdo não tinham alterações características de isquemia instalada, como necrose da porção superficial da mucosa, atrofia das criptas, presença de pseudomembranas, hemorragia e/ou hialinização da lâmina própria, criptite, abscessos das criptas e segmentos com perfurações da parede¹⁵. Isto pode ser explicado pelo curto período de isquemia e reperfusão do modelo experimental

utilizado, ao contrário do que já foi demonstrado em períodos mais longos de isquemia e reperfusão³⁸.

Alterações morfológicas discretas, como edema de lamina própria, achatamento nos vilos e outras contempladas também pelas classificações de Park e Chiu^{17, 18} e de Sonnino (Sonnino et al, 1992)¹⁶ foram encontradas nos grupos Videolaparoscopia e Endovascular, o que podem sugerir alterações teciduais mais precoces decorrentes de isquemia e reperfusão.

Somado a isto, na análise imunohistoquímica pelo método da Caspase-3, enzima que esta implicada diretamente nos mecanismos ditos executores da morte celular programada, houve maior número de apoptoses e menor número de neurônios nos plexos nervosos entéricos da submucosa para os animais do grupo endovascular (EV).

A explicação para a maior frequência de sinais precoces indicativos de sofrimento isquêmico para o grupo endovascular poderia estar no maior estresse oxidativo decorrente do uso de contraste endovenoso e também na manipulação endovascular com fios-guias e cateteres que, por sua vez, podem levar a espasmos e microembolizações no leito arterial. Achados como este já foram encontrados em comparações entre cirurgia aberta e endovascular tanto para dano isquêmico cerebral em cirurgia de carótida, como em isquemia renal após manipulação aórtica^{39, 40}.

No entanto, *Majewski* e colaboradores (2008)⁴¹ ao avaliarem a isquemia intestinal e suas repercussões no pós-operatório de 1174 pacientes submetidos ao tratamento de Aneurisma de Aorta Abdominal convencional e endovascular, observaram incidência 2,9%, com mortalidade de 53% nos primeiros 30 dias, considerando-se ambas as técnicas. Demonstraram ainda maior proporção desta complicação incidindo sobre os pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico convencional (4%) em relação aos pacientes submetidos ao reparo endovascular (1,4%)⁴¹.

5. CONCLUSÃO

A interrupção do fluxo aórtico pela técnica endovascular provocou maior número de apoptoses e diminuição no número de neurônios no período pós-reperusão, indicando isquemia precoce na mucosa intestinal em comparação às demais técnicas de tratamento.

No entanto, estudos envolvendo maiores tempos de isquemia e de reperusão aórtica poderão ajudar a elucidar os efeitos da interrupção de fluxo sanguíneo aórtico sobre a mucosa colônica, o que propiciará ao desenvolvimento e aprimoramento das opções terapêuticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kung HC, Hoyer DL, Xu JW, Murphy SL. National Vital Statistics Report. National Center for Health Statistics; Hyattsville, MD 2008.
 2. Cochenec F, Javerliat I, Di Centa I, et al. A comparison of total laparoscopic and open repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 2012;55:1549-53.
 3. Greenhalgh RM, Brown LC, Kwong GP et al. Comparison of Endovascular aneurysm repair with open repair in patients with abdominal aortic aneurysm (EVAR trial 1), 30-day operative mortality results: randomized controlled trial. *Lancet* 2004; 364:843-8.
 4. Blankensteijn JD, de Jong SE, Prinssen M et al. Two-year outcomes after conventional or endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med* 2005; 352: 2398-405.
 5. Schermerhorn ML, O'Malley AJ, Jhaveri A, Cotterill P, Pomposelli F, Landon BE. Endovascular vs. open repair of abdominal aortic aneurysms in the medicare population. *N Engl J Med* 2008;358:464-74.
 6. Bayne SR et al. A rare complication in elective repair of abdominal aortic aneurysm: multiple transmural colonic infarcts secondary to atheroemboli. *Am-Vasc-Surg*; 1994, 8(3):290-5.
 7. Toursarkissian B et al. Ischemic colitis. *Surg-Clin-North-Am*; 1997, 77(2): 461-70.
 8. Longo WE et al. Ischemic colitis complicating abdominal aortic aneurysm surgery in the U.S. veteran. *J-Surg-Res*; 1996, 60(2): 351-4.
 9. Pandolfo G, Fillmann LS, Fillmann HS, Fillmann EEP, Petracco JB, Goldani MA. Avaliação de Incidência e Fatores de Risco para Colite Isquêmica Seguinte à Reparação de Aneurisma Aórtico Abdominal. *Rev bras Coloproct* Julho/Setembro, 2007.
-

10. Assadian A , Senekowitsch C, Assadian O, Hartleb H, Hagemüller GW. Diagnostic accuracy of sigmoidoscopy compared with histology for ischemic colitis after aortic aneurysm repair. *Vascular*. 2008;16(5):243-7.
 11. Tøttrup M, Fedder AM, Jensen RH, Tøttrup A, Laustsen J. The value of routine flexible sigmoidoscopy within 48 Hours after surgical repair of ruptured abdominal aortic aneurysms. *Annals of Vascular Surgery*. 2013; 27 (6), 714-17.
 12. Hagihara PF et al. Incidence of ischaemic colitis following abdominal aortic reconstruction. *Surg-Gynaecol-Obstet*; 1979, 149: 571-3.
 13. Champagne BJ, Lee EC, Valerian B, Mulhotra N, Mehta M. Incidence of Colonic Ischemia after Repair of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm with Endograft. (*J Am Coll Surg* 2007;204:597–602).
 14. Perry RJT, Martin MJ, Eckert MJ, Sohn VY, Steele SR. Colonic ischemia complicating open vs endovascular abdominal aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg* 2008;48:272-7.
 15. Odze RD, Goldblum JR. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas (Second Edition)*. 2009. Elsevier.
 16. Sonnino RE, Riddle JM, Pritchard TJ. Grading system for histologic changes in rat small bowel transplants. *Transplant Proc* 24:1201, 1992.
 17. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Fält K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 107:574, 1990.
 18. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 101:478, 1970.
 19. Quaedackers JS, Beuk RJ, Bennet L, Charlton A, oude Egbrink MG, Gunn AJ, Heineman E. An evaluation of methods for grading histologic injury following ischemia/reperfusion of the small bowel. *Transplant Proc*. 2000; 32(6):1307-10.
-

-
20. Rivera LR, Thacker M, Castelucci P, Bron R, Furness JB. The reactions of specific neuron types to intestinal ischemia in the guinea pig enteric nervous system. *Acta Neuropathol.* 2009 Aug;118(2):261-70.
 21. Wallace AS, Barlow AJ, Navaratne L, Delalande JM, Tauszig-Delamasure S, Corset V, Thapar N, Burns AJ. Inhibition of cell death results in hyperganglionosis: implications for enteric nervous system development. *Neurogastroenterol Motil.* 2009 Jul;21(7):768-e49.
 22. Smith AC, Swindle MM. Preparation of Swine for the Laboratory. *ILAR J*, 2006 ; 47 (4) : 358-63.
 23. Swindle MM, Makin A, Herron AJ et al. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. *Vet Pathol*, 2012; 49:344-56.
 24. Suk P, Cundrle Jr J, Hruda J et al. Porcine Model of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm Repair. *E J Vasc Endovasc Surg*, 2012, 43: 698-704.
 25. Coscas R, Maumias T, Capdevila C, Javeliat I et al. Mini-invasive Treatment of Abdominal Aneurysms: Current Roles of Endovascular, Laparoscopic and Open Techniques. *Ann Vasc Surg*, 2014; 28: 123-131.
 26. Nio D, Diks J, Bemelman WA. Laparoscopic Vascular Surgery: A Systematic Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2007; 33: 263e-271.
 27. Chaikof E, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard A, Timaran C, Upchurch Jr G, Vieth F. The care of patients with an abdominal aortic aneurysm : The Society for Vascular Surgery practice guidelines. *J Vasc Surg*, 2009; 50(8S) : 2S-49S.
 28. Prinssen M, Verhoeven E, Buth J et al. A randomized trial comparing conventional and endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med* 2004; 351:1607-18.
 29. Alimi YS, Caridi G, Hartung O, Barthelemy P, Boufi M, Aissi K, Otero A. Hand-Assisted Laparoscopic Infra renal Aortic Reconstruction. In: Branchereau A, Jacobs M, eds. *Hybrid*
-

- Vascular Procedures. Volume 1. 1a ed ed. Malden - Massachusetts: Blackwell Publishing, 2004:115-126.
30. Lin JC, Kolvenbach R, Schwierz E, Wassiljew S. Total laparoscopic aortofemoral bypass as a routine procedure for the treatment of aortoiliac occlusive disease. *Vascular* 2005;13:80-3.
31. Kolvenbach R. Total laparoscopic aortic aneurysm surgery. *Acta Chir Belg* 2006;106:36-9.
32. Coggia M, Javerliat I, Di Centa I, Colacchio G, Cerceau P, Kitzis M, Goeau-Brissonniere OA. Total laparoscopic infrarenal aortic aneurysm repair: preliminary results. *J Vasc Surg* 2004;40:448-54.
33. Javeliat I, Capdevila C, Beauchet A et al. Results of Laparoscopic Surgery for Abdominal Aortic Aneurysms in Patients with Standard Surgical Risk and Anatomic Criteria Compatible with EVAR. *Ann Vasc Surg* 2013; 27 (4):412-17.
34. Yoshida RA, Yoshida WB, Kolvenbach R et al. Curva de aprendizado em cirurgia aórtica videolaparoscópica: estudo experimental em porcos. *J Vasc Br*, 2008, 7: 232-38.
35. Martin-Cancho MF, Crisostomo V, Soria F et al. Physiologic Responses to Infrarenal Aortic Cross-Clamping during Laparoscopic or Conventional Vascular Surgery in Experimental Animal Model: Comparative Study. *Anesthesiol Res Pract* 2008; 1-8.
36. Thompson MM, Nasim A, Sayers RD et al. Oxygen Free Radical and Cytokine Generation During Endovascular and Conventional Aneurysm Repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996; 12: 70-75.
37. Malina M, Vieth F, Ivancev K et al. Balloon Occlusion of the Aorta During Endovascular Repair of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm. *J Endovasc Ther*, 2005;12: 556–559.
38. Tóth S Jr, Pekárová T, Varga J, Tomečková V, Tóth S, Lakyová L, Veselá J. Trehalase as a possible marker of intestinal ischemia--reperfusion injury. *Acta Biochim Pol.* 2013; 60(3):411-6.
-

39. Wijnen MH, Cuypers P, Buth J, Vader HL, Roumen RM. Differences in renal response between endovascular and open repair of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2001 Feb;21(2):171-4.
 40. Giuliani E, Genedani S, Moratto R, Veronesi J, Carone C, Bonvecchio C, Mosca F, Coppi G, Barbieri A. Neural damage biomarkers during open carotid surgery versus endovascular approach. *Ann Vasc Surg.* 2014;28(7):1671-9.
 41. Majewski *et al.* Colon ischemia following abdominal aortic aneurysm repair in the era of endovascular abdominal aortic repair. *Journal of Vascular Surgery*, February 2008; Volume 47, Number 2
-

7. Figuras and Tabelas

Classificação de Sonnino et al., 1992 (soma de valores – 0 para normal e 1 para achados anormais)
Vilos: - Presentes/ ausentes - Normais/ anormais - longos, pequenos, estreitos, amplos
Epitélio: - Normal - Anormal: perda celular, desnudo, edema
Tecido Conectivo: - Normal - Anormal: edema, infiltrado intra ou extravascular
Vasos linfáticos: - Presentes/ ausentes - Normais/ anormais: dilatados, obstruídos
Criptas - Presentes/ ausentes - Normais/ anormais: degeneração, desorganização - Regeneração: presente/ ausente
Lâmina Própria: - Presente/ ausente - Normal/ Anormal: edema, infiltrado mono ou polinuclear, estase intravascular, hemorragia
Muscular da mucosa: - Presente/ ausente - Normal/ Anormal: estase intravascular, hemorragia
-Bactérias: - Presentes/ ausentes

Figura 1. Classificação de Sonnino et al., 1992, utilizada na análise histopatológica pelo H&E.

Classificação de Park et al., 1990 / Chiu et al., 1970 (graus de 0 a 8)	
Chiu	<ol style="list-style-type: none">0. Mucosa normal1. Espaços subepiteliais nas pontas dos vilos2. Extensão dos espaços subepiteliais com moderada elevação3. Enormes elevações dos lados dos vilos, com algumas pontas desnudas4. Vilos desnudos, capilares dilatados5. Desintegração da lâmina própria
Park	<ol style="list-style-type: none">6. Injúrias nas camadas das criptas7. Infarto transmucoso8. Infarto transmural

Figura 2. Classificação de Park et al. 1990 e Chiu et al., 1970, utilizada na análise histopatológica pelo H&E.

Tabela 1. Resultados da análise morfológica pela histologia padrão (H&E):**Classificação de Sonnino*, de Park/Chiu ** e descrição histológica.**

Grupo Experimental	Animal	Classificação de Sonnino (Soma dos valores)	Classificação de Park/Chiu (grau de 0 a 8)	Descrição histológica
Grupo C	C1	0	0	normal
	C2	0	0	normal
	C3	0	0	normal
	C4	0	0	normal
	C5	0	0	normal
	C6	0	0	normal
	C7	0	0	normal
	C8	0	0	normal
	C9	0	0	normal
	C10	0	0	normal
Grupo L	L1	0	0	normal
	L2	1	1	Edema de lâmina própria
	L3	0	0	normal
	L4	0	1	Edema de lâmina própria focal
	L5	0	0	normal
	L6	0	0	normal
	L7	0	0	normal
	L8	0	0	normal
	L9	0	0	normal
	L10	0	0	normal
	L11	0	0	normal
	L12	0	0	normal
Grupo EV	EV1	0	0	normal
	EV2	0	0	normal
	EV3	0	0	normal
	EV4	0	0	normal
	EV5	0	0	normal

	EV6	0	0	normal
	EV7	0	0	normal
	EV8	0	0	normal
	EV9	2	2	Edema de lâmina própria + achatamento de vilosidade

* Sonnino et al., 1992; ** Chiu et al., 1970; Park et al., 1990

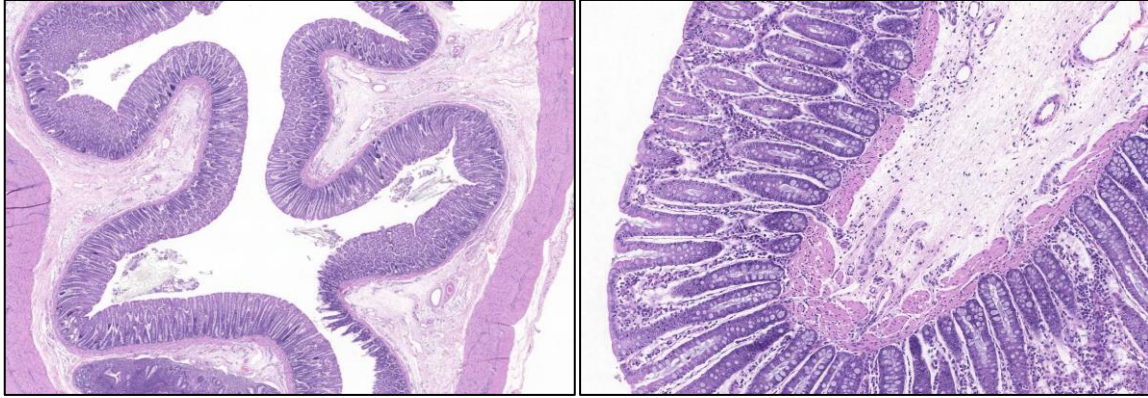


Figura 3. Edema de submucosa com alargamento da prega (H&E, 20x). No detalhe, mucosa normal com lâmina própria alargada indicando edema de submucosa (H&E, 100x). Animal 2 do grupo videolaparoscópica.

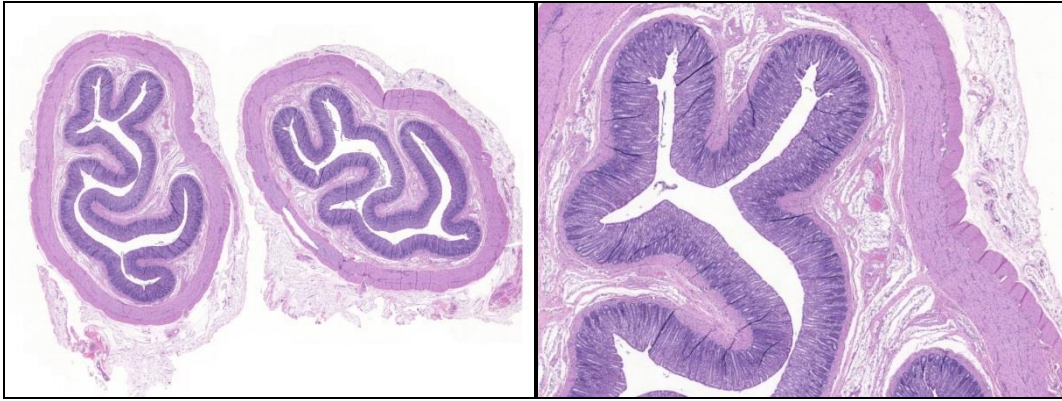


Figura 4. À esquerda, foto panorâmica dos cortes de cólon terminal. À direita, em detalhe, mucosa intestinal histologicamente normal (H&E, 20x). Animal 7 do grupo videolaparoscópica.

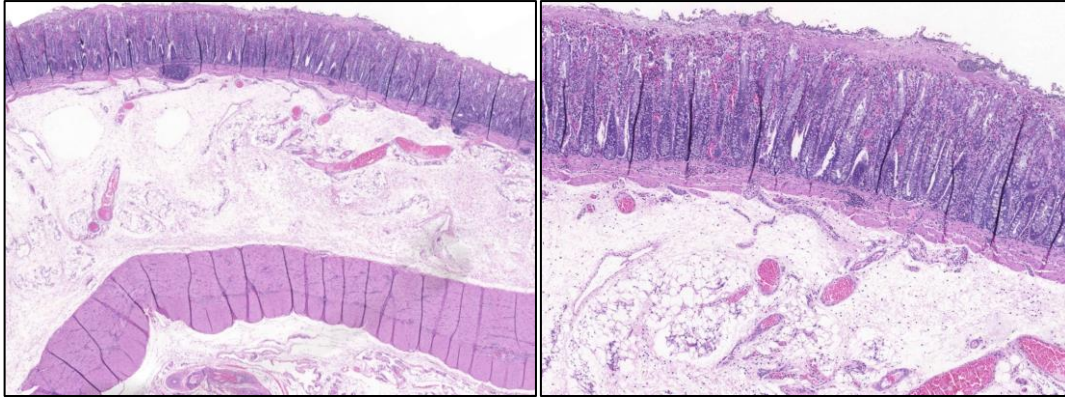


Figura 5. À esquerda, edema de submucosa (H&E, 20x). No maior aumento, nota-se congestão capilar associada (H&E, 50x). Animal 9 do grupo endovascular.

Tabela 2. Resultados da análise imunohistoquímica da Caspase-3

	Grupo C		Grupo L		Grupo EV		p*
Caspase IHQ							
nº de apoptoses	Média (± desvio-padrão)	1,96 ± 1,12	Média (± desvio-padrão)	1,56 ± 1,02	Média (± desvio-padrão)	2,00 ± 1,25	0,6 356
Caspase IHQ							
nº de neurônios	Média (± desvio-padrão)	9,12 ± 3,49	Média (± desvio-padrão)	6,47 ± 1,98	Média (± desvio-padrão)	5,87 ± 1,89	0,0 211

* análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey,

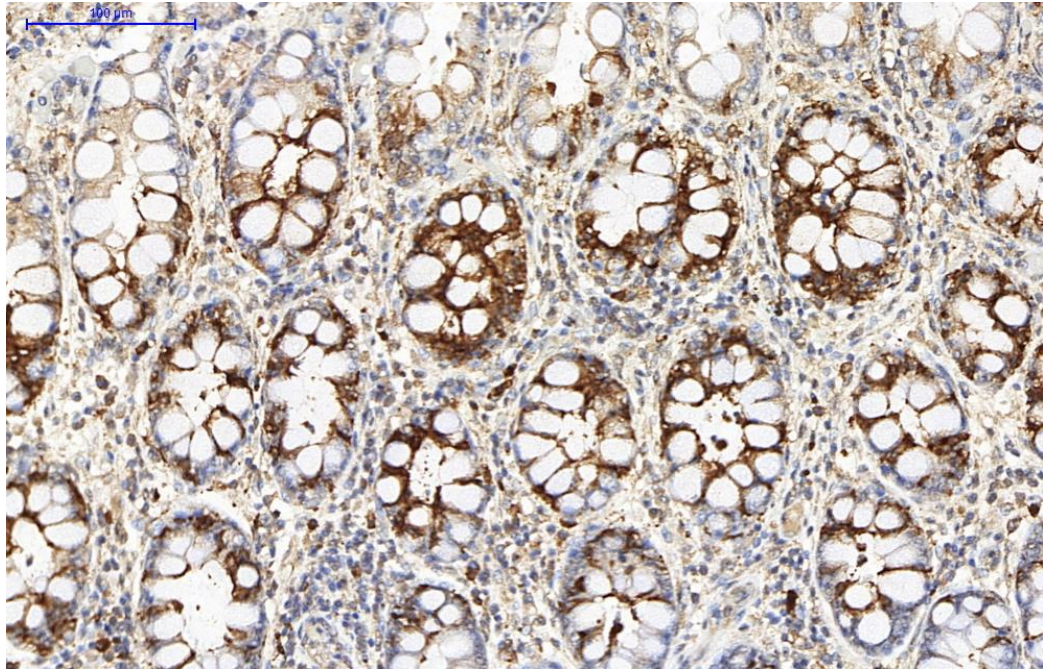


Figura 6. Expressão aumentada de Caspase-3 evidenciando apoptose células epiteliais de criptas intestinas, no animal 9 do grupo endovascular (Caspase 3, 200x).

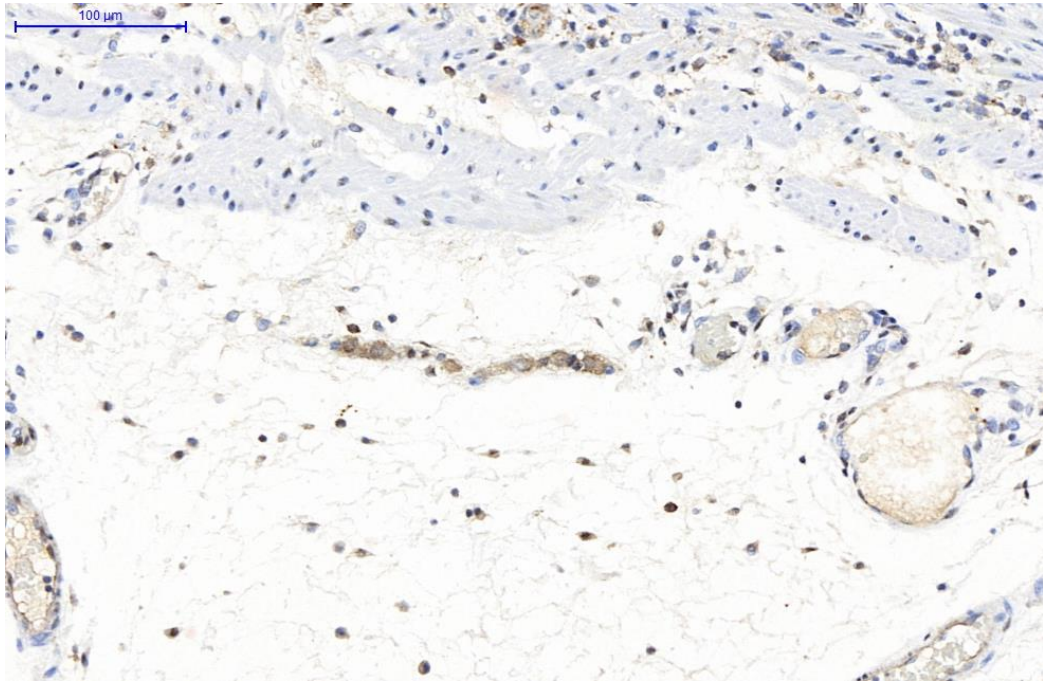


Figura 7. Expressão imunohistoquímica citoplasmática da Capase-3 em neurônios dos plexos nervosos submucosos do intestino distal de porco (Caspase 3, 200x)

Anexo I



UNESP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA



Comissão de Ética em Experimentação Animal
Criada através da Portaria DFM nº 30 de 26/04/99

Certificado

Certificamos que (Protocolo CEEA 899-2011) "Efeito da n-acetilcisteína na atenuação do estresse oxidativo e na melhora da função renal durante clameamento aórtico em cirurgia aórtica minimamente invasiva: estudo experimental em porcos", a ser conduzido por Rodrigo Gibin Jaldin, orientado pelo Prof. Dr. Winston Bonetti Yoshida, Co-orientado por Ricardo de Alvarenga Yoshida e colaboração de Marcone Lima Sobreira, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a ressalva de que os "porcos" são provenientes de Biotério convencional, sem condições de atestar a Sanidade dos mesmos.

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEEA em 25/08/2011.



Prof^ª Dr^ª Maria Rosa Bet Moraes Silva
Presidente da CEEA



Alberto Santos/Capelluppi
Secretário da CEEA

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P. CEP: 18.618-970 Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143 e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br