

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO PNEUMOPERITÔNIO
NOS PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E DO
ESTRESSE OXIDATIVO RENAL DE RATOS PRÉ-
TRATADOS COM CITRATO DE SILDENAFIL

FABIANO BRAZ

BOTUCATU – SP
AGOSTO 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO PNEUMOPERITÔNIO
NOS PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E DO
ESTRESSE OXIDATIVO RENAL DE RATOS PRÉ-
TRATADOS COM CITRATO DE SILDENAFIL

FABIANO BRAZ

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Biotecnologia Animal, Área de
Cirurgia Experimental e Cirurgia de
Pequenos Animais, da Faculdade
de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Universidade Estadual
Paulista – UNESP, para obtenção
do Título de Mestre.

Orientador(a): Profa. Dra. Juliany
Gomes Quitzan

BOTUCATU – SP

AGOSTO 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

Braz, Fabiano.

Avaliação do impacto do pneumoperitônio nos parâmetros hemodinâmicos e do estresse oxidativo renal de ratos pré-tratados com citrato de sildenafil / Fabiano Braz. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Juliany Gomes Quitzan
Capes: 50501070

1. Pneumoperitônio. 2. Stress oxidativo. 3. Rins - Doenças. 4. Citrato de Sildenafil. 5. Rato como animal de laboratório.

Palavras-chave: Pneumoperitônio; Rato; Rim; Sildenafil.

FABIANO BRAZ

AGOSTO/2016

TÍTULO: AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO PNEUMOPERITÔNIO NOS
PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E DO ESTRESSE OXIDATIVO RENAL
DE RATOS PRÉ-TRATADOS COM CITRATO DE SILDENAFIL

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Profa. Assistente Doutora Juliany Gomes Quitzan

Presidente e Orientadora

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – FMVZ Unesp

Prof. Assistente Doutor Paulo Roberto Kawano

Membro

Departamento de Urologia

Faculdade de Medicina de Botucatu – FM Unesp

Profa. Adjunta Doutora Ana Angélica Henrique Fernandes

Membro

Departamento de Química e Bioquímica

Instituto de Biociências de Botucatu – IB Unesp

Dedicatória

Este trabalho é dedicado à minha família, meu porto seguro, que sempre me apoiou e me deu forças para continuar a aprender e evoluir dentro da profissão que escolhi.

À minha mãe, Nilza, por estar ao meu lado desde as minhas primeiras decisões e sempre apoiar a realização dos meus sonhos, mesmo quando pareciam impossíveis.

À minha esposa, Patrícia, por sempre me estimular a procurar, conhecer e ser mais, não me deixando cair na mesmice.

À minha filha, Manoela, que chegou em minha vida para dar um sentido maior e melhor.

Por fim, dedico aos animais que doaram suas vidas nesta pesquisa, contribuindo para a evolução da ciência, na busca de uma qualidade de vida melhor para outros animais e aos homens.

Agradecimentos

À minha orientadora, **Profa Dra Juliany Gomes Quitzan**, colega do tempo de graduação, que aceitou a missão de me orientar na pós-graduação, mesmo depois de eu ter ficado alguns anos longe da vida acadêmica.

Às alunas de graduação: **Isabella Fabris, Mayara Chagas e Rebeca Abibe**, pelo apoio e dedicação durante a execução do projeto.

Ao **Professor Doutor José Francisco Teixeira Neto**, que nos apoiou e auxiliou durante a fase experimental.

Às médicas veterinárias anestesistas **Elisabeth e Mariana**, pós-graduandas, que dedicaram parte de seu tempo em nos ajudar na missão de manter os animais sem dor.

À **Professora Doutora Ana Angélica Henrique Fernandes**, pela ajuda no processamento do material e avaliação do estresse oxidativo.

À **UNIPEX** – Unidade de Pesquisa Experimental da Faculdade de Medicina, Unesp – Botucatu, pelo alojamento dos animais.

Ao médico veterinário **Diego**, da UNIPEX, pelo cuidado com os animais utilizados no projeto.

E por fim, aos animais que doaram suas vidas em prol da ciência.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
CAPÍTULO 2	
4. INTRODUÇÃO.....	17
5. OBJETIVO	18
6. METODOLOGIA	18
6.1. Animais de Experimentação	18
6.2. Grupos Experimentais	18
6.3. Seqüência Experimental	19
6.4. Eutanásia	22
6.5. Análise do Estresse Oxidativo	22
6.5.1. Glutathione Peroxidase	22
6.5.2. Catalase	22
6.5.3. Superóxido Dismutase	23
6.5.4. Hidroperóxido Lipídio	23
6.6. Análise Estatística	23
7. RESULTADOS	24
7.1. Variáveis Hemodinâmicas	24
7.1.1. Pressão Arterial Média (PAM)	24
7.1.2. Frequência Cardíaca	24
7.1.3. Frequência Respiratória	25
7.2. Variáveis de Oxigenação e Ventilação	27
7.2.1. pH	27
7.2.2. Pressão Parcial de O ₂ (PaO ₂)	27
7.2.3. Pressão Parcial de CO ₂ (PaCO ₂)	28
7.2.4. Saturação de O ₂ (SatO ₂)	28

7.3. Estresse Oxidativo	30
8. DISCUSSÃO	31
9. CONCLUSÃO	36
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

RESUMO

BRAZ F., **Avaliação do impacto do pneumoperitônio nos parâmetros hemodinâmicos e do estresse oxidativo renal de ratos pré-tratados com citrato de sildenafil**. Botucatu, 2016, 41f. Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

A laparoscopia tem sido cada vez mais empregada na rotina médica e veterinária com o intuito de promover intervenções cirúrgicas e diagnósticas menos invasivas. Apesar de seus benefícios, há evidências de que a insuflação abdominal pode levar à isquemia dos órgãos, seguida pela injúria de reperfusão. Algumas medicações tem sido utilizadas na tentativa de prevenir ou minimizar os danos que podem ser causados pela injúria isquemia/reperfusão. O presente estudo teve por objetivo avaliar se o uso do sildenafil via oral, antes da realização do pneumoperitônio, seria capaz de atenuar estes efeitos da isquemia/reperfusão. Foram utilizados 26 ratos Wistar machos, divididos em 3 grupos: controle (6), Sham (10) e S/P (10). O grupo S/P foi suplementado com 1mg/kg de citrato de sildenafil via oral. Os animais dos grupos Sham e S/P foram submetidos ao pneumoperitônio por 60 minutos, com pressão intra-abdominal de 12mmHg. A artéria carótida direita foi dissecada e canulada para que fossem colhidas amostras sanguíneas e avaliadas variáveis de oxigenação e ventilação (pressão parcial de oxigênio, pressão parcial de gás carbônico e saturação de oxigênio). Durante o procedimento também foram avaliadas variáveis hemodinâmicas

(frequência cardíaca, frequência respiratória e pressão arterial média). Após 24 horas os animais foram submetidos à eutanásia e foram colhidos os rins para dosagem do estresse oxidativo, através da mensuração da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, glutathionaperoxidase e catalase, além do subproduto da peroxidação lipídica, o hidroperóxido. Os resultados observados em relação às variáveis hemodinâmicas e também de oxigenação e ventilação, não apresentaram diferença quando comparados os diferentes momentos dentro de um mesmo grupo, e na comparação entre os grupos. Nos valores encontrados para a atividade das enzimas antioxidantes foi similar no grupo S/P e controle. Foi observado que a atividade das enzimas glutathionaperoxidase e catalase apresentaram considerável aumento, ao passo que a superóxido dismutase teve importante queda. O subproduto da peroxidação lipídica, hidroperóxido, também foi menor nos grupos controle e S/P, quando comparado ao grupo Sham. Tais resultados indicam que tanto o grupo controle, como o grupo S/P apresentam uma maior capacidade de proteção contra a agressão oxidativa. Sendo assim, pode-se concluir que o citrato de sildenafil, quando utilizado antes da realização do pneumoperitônio foi capaz de diminuir o estresse oxidativo causado pela injúria de isquemia e reperfusão.

Palavras-chave: rato, rim, sildenafil, pneumoperitônio.

ABSTRACT

BRAZ F., Pneumoperitoneum impact assessment in the hemodynamics and renal oxidative stress in rats pretreated with sildenafil citrate. Botucatu, 2016, 41p. Master's thesis., Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Laparoscopy has been increasingly used in medical and veterinary routine in order to promote less invasive surgical and diagnostic interventions. Despite its benefits, there is evidence that abdominal insufflation can lead to ischemia of the organs, followed by reperfusion injury. Some medications have been used in attempts to prevent or minimize the damage that can be caused by injury ischemia/reperfusion. This study aimed to assess whether the use of oral sildenafil, prior to the pneumoperitoneum, was able to mitigate these effects of ischemia/reperfusion. We used 26 male Wistar rats, divided in 3 groups: control (6) Sham (10) and S/P (10). The S/P group was supplemented with 1 mg/kg of oral sildenafil citrate. The animals of the sham group and S/P were subjected to pneumoperitoneum for 60 minutes with intra-abdominal pressure of 12mmHg. The right carotid artery was dissected and cannulated in order to collect blood samples and evaluated oxygenation and ventilation variables (partial pressure of oxygen, partial pressure of carbon dioxide and oxygen saturation). During the procedure, hemodynamic variables were also evaluated (heart rate, respiratory rate and mean arterial pressure). After 24 hours the animals were euthanized and their kidneys were collected for dosage of oxidative stress by measuring the activity of antioxidant enzymes

superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase, besides the by-product of lipid peroxidation, hydroperoxide. The results observed for the hemodynamic variables and also oxygenation and ventilation, showed no difference when comparing the different times within the same group, and compared between groups. The values found for the antioxidant enzyme activity were similar in the S/P and control group. It was observed that the activities of the enzymes glutathione peroxidase and catalase were markedly increased, while superoxide dismutase had a significant decrease. The by-product of lipid peroxidation, hydroperoxide, was also lower in the control groups and S/P when compared to the sham group. These results indicate that the control group, like the S/P group have a greater ability to protect against oxidative insult. Thus, it can be concluded that sildenafil citrate when used prior to the pneumoperitoneum was able to reduce the oxidative stress caused by ischemia and reperfusion injury.

Keywords: rat, kidney, sildenafil, pneumoperitoneum.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O progresso observado dentro das ciências médicas nas últimas décadas destaca-se principalmente pelos avanços tecnológicos que propiciaram o desenvolvimento de metodologias com características menos invasivas para realização de procedimentos cirúrgicos e diagnósticos (PARKINSON, 2012). Dentre os procedimentos minimamente invasivos, a cirurgia laparoscópica, e mais recentemente a cirurgia robótica, tem evoluído consideravelmente, substituindo alguns inconvenientes e apresentando índices de sucesso pós-operatório superiores à laparotomia convencional (GUPTA e WATSON, 2001; HANLY et al., 2003).

Mesmo com o apontamento de vários benefícios, tais como menos dor pós-operatória e menor interferência na imunidade (GUPTA e WATSON, 2001; GUTT et al., 2001, HANLY et al., 2003; ROMEO et al., 2003), a cirurgia laparoscópica também apresenta pontos críticos. Evidências científicas levantam a hipótese de que as consequências da insuflação abdominal, incluindo o aumento da pressão intra-abdominal, possam levar a significativa isquemia dos órgãos, seguida pela injúria de reperfusão (SAMMOUR et al., 2009). Neste cenário estão inseridas as alterações hemodinâmicas que predispoem ao comprometimento da função renal, podendo esta ser transitória ou definitiva (BISHARA et al., 2009; WIESENTHAL et al., 2011; ABASSI et al., 2008).

Os rins apresentam intenso metabolismo aeróbico (BONVENTRE e YANG, 2011; SHARFUDDIN e MOLITORIS, 2011) e metabolizam todo o oxigênio em água, resultando em mínima formação de subprodutos reativos. Em pacientes submetidos ao pneumoperitônio, possivelmente devido à isquemia renal, o controle do metabolismo do oxigênio pode tornar-se alterado, causando aumento da produção de espécies reativas, como radicais superóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais livres de hidroxila. O acúmulo de espécies reativas do oxigênio, com consequente desequilíbrio entre produção e eliminação destes compostos, levam ao acontecimento de um fenômeno denominado estresse oxidativo. É devido a este fenômeno que podemos observar lesões celulares causadas por peroxidação dos lipídios

das membranas, oxidação de proteínas e lesões de DNA. A avaliação do estresse oxidativo tem sido empregada na análise e mensuração do dano isquêmico tecidual após reperfusão (PAGLIUSO et al., 2006).

Inúmeros estudos têm sido realizados na busca de fármacos que possam ser utilizados para a proteção renal, com o intuito de prevenir ou minimizar os danos causados pela injúria de isquemia/reperfusão, após o paciente ser submetido a um pneumoperitônio,. Dentre eles podemos citar Éster fenetil ácido cafeico (CAPE) (RIFAIÖGLU et al., 2013), Aprotinina (BALTATZIS et al., 2014), N-acetilcisteína (NAC) (SEGURO et al., 2012), Teofilina (ÖZTÜRK et al., 2015) e inibidores da fosfodiesterase (ORUC et al., 2010; LLEDO-GARCIA et al., 2011).

A fosfodiesterase 5 (PDE5) é uma enzima que tem sido encontrada em diversos órgãos, tais como o rim (GIORDANO et al., 2001). É conhecido que o uso de inibidores da PDE5 impedem a degradação do monofosfato de guanosina cíclico (GMPc). Como consequência da concentração elevada de GMPc no interior das células, é observada a vasodilatação arterial (MEDEIROS et al., 2010).

Dentre os inibidores da fosfodiesterase 5, o citrato de sildenafil foi o primeiro medicamento aprovado pela Food and Drug Administration (FDA, EUA) para tratamento da disfunção erétil e hoje em dia são conhecidas ações diversas no organismo, que possibilitam seu uso para outras finalidades, dentre elas o tratamento da angina e da hipertensão pulmonar (OCKAILI et al., 2002; ROSANO et al., 2005; SANDNER et al., 2007; SESTI et al., 2007; ELAHI et al., 2009; MOHEY et al., 2016). Ainda, as propriedades antioxidante, anti-inflamatória e anti-apoptótica do citrato de sildenafil tem sido atribuídas a uma função de renoproteção em diferentes modelos experimentais (MEDEIROS et al., 2010; ORUC et al., 2010; LLEDO-GARCIA et al., 2011; MOHEY et al., 2016).

Com base nos resultados preliminares acerca dos potenciais efeitos protetores do citrato de sildenafil nos diferentes tecidos, o presente estudo propõe avaliar se o pré-tratamento com este fármaco seria capaz de atenuar os efeitos da isquemia/reperfusão em ratos submetidos ao pneumoperitônio.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O primeiro registro literário de laparoscopia data de 1901. No ano de 1960, Kurt Semm, ginecologista alemão desenvolveu um insuflador automático para estabilizar o pneumoperitônio. Em 1985, Erich Mule relatou a primeira colecistectomia laparoscópica (SAMMOUR et al., 2009) e, desde então, tem sido realizadas pesquisas para desenvolvimento de novas tecnologias que propiciem intervenções cirúrgicas e diagnósticas menos invasivas (PARKINSON, 2012).

O menor trauma cirúrgico proporcionado pela laparoscopia mostra vantagens que otimizam sua utilização em relação aos métodos cirúrgicos convencionais, incluindo a menor dor pós-operatória (GUPTA e WATSON, 2001; GUTT et al., 2001, HANLY et al., 2003). A maioria dos estudos clínicos e experimentais demonstra que o procedimento laparoscópico está associado à melhor preservação da função imune sistêmica pós-operatória em relação à cirurgia convencional (GUPTA e WATSON, 2001; ROMEO et al., 2003). Ainda, em humanos, destaca-se o melhor resultado estético e o retorno mais rápido do paciente às suas atividades habituais, diminuindo tempo de hospitalização e reduzindo custos (HANLY et al., 2003; WIESENTHAL et al., 2011).

Apesar dos inúmeros benefícios sobre os procedimentos abertos, as cirurgias laparoscópicas não estão isentas de cursar com efeitos adversos. O pneumoperitônio, necessário para a realização de um procedimento laparoscópico é obtido pela insuflação da cavidade abdominal com gás, usualmente dióxido de carbono (CO₂). Dentre as vantagens do CO₂, destaca-se suas características não inflamáveis, menor custo, facilidade de manuseio, eliminação rápida por meio de ventilação e baixo risco de embolia gasosa (FAHY et al., 1999). No entanto, os efeitos causados pela presença do CO₂, aumento da pressão intra-abdominal e duração do pneumoperitônio têm sido investigados e relacionados com alterações hemodinâmicas (LAI et al., 2014), imunológicas, repercussões na angiogênese, biologia tumoral e fisiologia renal (WIESENTHAL et al., 2011).

Além do tipo de gás utilizado para a formação do pneumoperitônio, a pressão exercida dentro do abdomen também é bastante discutida. Pressões acima de 15mmHg foram correlacionadas com lesões de isquemia/reperfusão tecidual em múltiplos órgãos, em modelo suíno (SCHACHTRUPP, 2002).

A disfunção renal pode ocorrer devido ao comprometimento da hemodinâmica renal causada pelo pneumoperitônio. Autores relatam que valores acima de 10mmHg de pressão intra-abdominal podem ser causa de oligúria transitória, diminuição na taxa de filtração glomerular e fluxo sanguíneo renal (ABASSI et al., 2008). Compressão direta da veia e do parênquima renal e aumento da resistência vascular renal contribuem para a isquemia-reperfusão do órgão (HAZEBROEK, 2003). SCHÄFER et al. (2001) em seu estudo observaram diminuição do fluxo renal, que variou de 12 a 40%. No entanto, trata-se de um fenômeno multifatorial, envolvendo nível de pressão intra-abdominal, grau de hipercapnia, posicionamento do paciente e reserva hemodinâmica individual (BISHARA et al., 2009; SOUZA et al., 2013).

O aumento da liberação de vasopressina, catecolaminas, hormônios do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e endotelinas (ET)-1 são considerados outros fatores adicionais que podem afetar os rins durante o pneumoperitônio (ABASSI et al., 2008; BISHARA et al., 2009; WIESENTHAL et al., 2011). As endotelinas são potentes agentes vasoconstrictores nos mamíferos, com ação nos sistemas cardiovascular e renal, além de outros órgãos alvo, por ligação a dois tipos principais de receptores, ETA e ETB. Alta abundância de receptores ETA foi detectada na aorta, coração e rim, ao passo que os receptores ETB estão expressos principalmente no endotélio e células epiteliais tubulares do ducto coletor. É conhecido que o rim é o órgão alvo e também o maior produtor de endotelinas (ET)-1 (ABASSI et al., 2008).

O Óxido Nítrico (NO) é um sistema parácrino/autócrino adicional dentro do rim que também influencia a função vascular e tubular e pode interagir com as ações do sistema de endotelinas. A este respeito, vários estudos têm demonstrado que o NO medular desempenha papel fundamental na regulação da hemodinâmica renal medular e função excretora (ABASSI et al., 2008).

A estabilidade da função renal adequada é primordial para manutenção das funções deste órgão, cuja arquitetura celular altamente diferenciada depende de um metabolismo aeróbio intenso (BONVENTRE e YANG, 2011; SHARFUDDIN e MOLITORIS, 2011). Em condições normais, o oxigênio é metabolizado completamente à água, sendo formadas pequenas quantidades de produtos intermediários de oxigênio. Contudo, na isquemia há perda de controle do metabolismo do oxigênio, utilizado como aceptor final de elétrons, provocando aumento da produção de espécies reativas, como radicais superóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais livres de hidroxila. A abundância de espécies reativas de oxigênio provoca a oxidação dos fosfolipídios de membrana, proteínas e DNA, resultando em necrose celular e disfunção de órgãos (BALTATZIS et al., 2014).

A quebra no equilíbrio existente entre a produção de espécies reativas e a atividade antioxidante resulta no fenômeno denominado estresse oxidativo. Quando encontra-se instalado o estresse oxidativo, tem início a peroxidação lipídica das membranas celulares. O processo de peroxidação lipídica também pode ser catalisado por íons ferro, pela conversão de hidroperóxidos lipídicos em radicais lipídicos altamente reativos, que iniciam nova cadeia de reações (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; LIMA e ABDALLA, 2001).

Em tecidos pós-isquêmicos, o acúmulo de radicais livres é limitado por três sistemas antioxidantes - SOD (superóxido dismutase), catalase e glutathiona (GSH), (BARREIROS et al., 2006; PAGLIUSO et al., 2006). A enzima superóxido dismutase (SOD) é responsável por catalisar a destruição do ânion superóxido (O_2^-) e convertê-lo em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A catalase, segundo sistema, participa na dismutação do peróxido de hidrogênio em oxigênio (O_2) e água (H_2O) (BARREIROS et al., 2006).

A glutathiona (GSH) é o mais importante antioxidante endógeno. Em conjunto com outras duas enzimas : glutathiona peroxidase (GSH-Px) e glutathiona redutase (GSH-Rd), forma o terceiro sistema antioxidante. Em sua forma reduzida, (GSH) e por meio da enzima glutathiona peroxidase, ela

interage com os radicais formando glutathione oxidada (GSSG) e água. A GSH-Px atua tanto sobre os peróxidos lipídicos como o peróxido de hidrogênio, reduzindo-os na presença de glutathione (fornecedora de hidrogênio) (BARREIROS et al., 2006; PAGLIUSO et al., 2006).

Outra enzima bastante estudada é a xantina oxidase (XO), que tem descrito seu efeito altamente tóxico no pulmão. KHOURY et al. (2009), pesquisaram a ação da xantina oxidase (XO) no tecido renal, após a ocorrência de lesão isquemia/reperfusão.

Os radicais livres são compostos altamente reativos e que apresentam instabilidade química, o que dificulta sua avaliação direta. Portanto, a quantificação da atividade antioxidante (catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase) e de subprodutos da peroxidação lipídica (malondialdeído, F2-isoprostano, hidroperóxido, entre outros), (LIMA e ABDALLA, 2001; PAGLIUSO et al., 2006; GALVÃO, 2009; NIKI, 2013; SANTOS et al., 2013) tem sido indicadas para melhor avaliar o papel dos radicais livres nas lesões.

Com o objetivo de proteger os rins contra os efeitos da lesão de isquemia/reperfusão, recentes estudos experimentais tem investigado a ação de diferentes substâncias, incluindo uso de inibidores da fosfodiesterase (ORUC et al.; 2010; LLEDO-GARCIA et al., 2011).

A Fosfodiesterase do tipo-5 (PDE5) é um componente integral da via óxido nítrico (ON)/monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), e tem sido caracterizada em diversos tecidos e tipos celulares, tais como pênis, pulmão, coração, fígado, rim, cérebro e estômago (GIORDANO et al., 2001). A distribuição tecidual da PDE5 coincide com a da proteína quinase G (PKG), provavelmente porque ambas as enzimas são os principais receptores intracelulares para GMPc. Além disso, a PKG é um excelente catalisador *in vitro* para a fosforilação da PDE5 (THOMAS et al., 1990). Em última instância, os níveis teciduais de GMPc dependem de um equilíbrio entre a atividade da guanilato ciclase, que catalisa a formação de GMPc a partir da guanosina trifosfato (GTP), e pela ação da PDE5 que catalisa a degradação do GMPc em guanosina monofosfato (GMP). Como resultado, os inibidores da PDE5 aumentam a concentração de GMPc e,

consequentemente, seu efeito, a vasodilatação arterial (CHUANG et al., 1998; GIBSON, 2001; MEDEIROS et al., 2010) (Figura 1).

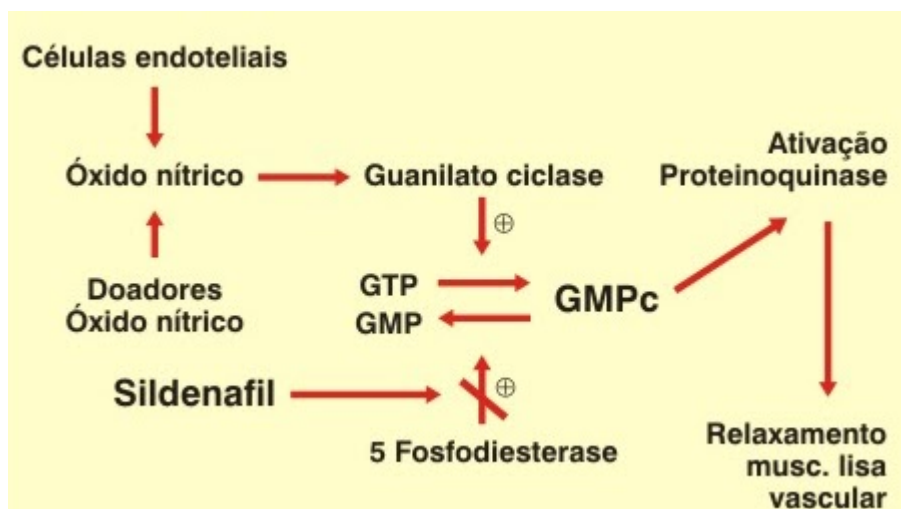


FIGURA 1. Mecanismo de ação de um inibidor da PDE5 (sildenafil). (GTP: Guanosina trifosfato, GMPc: Mofosfato cíclico de gaunosina, GMP: Monofosfato de Guanosina).

Os inibidores da PDE5 (PDE5i) foram originalmente desenvolvidos para tratar angina e, posteriormente, utilizados na terapêutica da disfunção erétil e da hipertensão pulmonar (REFFELMANN e KLONER, 2009). O citrato de sildenafil foi a primeira droga aprovada pela FDA para o tratamento da disfunção erétil. Entretanto, estudos recentes sugerem que os PDE5i, incluindo o sildenafil, vardenafil e tadalafil, podem ter efeitos muito mais amplos (SANDNER et al., 2007; ELAHI et al., 2009), melhorando inclusive a função endotelial (ROSANO et al., 2005) e reduzindo o tamanho da área de infarto do miocárdio em ratos (OCKAILI et al., 2002; SESTI et al., 2007). O citrato de sildenafil e vardenafil apresentam meia-vida de 4-5 horas e o tadalafil apresenta meia-vida maior (17,5 horas) (MORCOS, 2014).

Estes fármacos podem oferecer proteção contra a lesão de isquemia/reperfusão por sustentar o efeito vasodilatador do Óxido Nítrico liberado na medula renal. O óxido nítrico ajuda a diminuir a expressão e a atividade da endotelina no endotélio vascular, protegendo-o contra a lesão renal isquêmica. MEDEIROS et al (2016) referem que quando a lesão

endotelial está presente, a produção do Óxido Nítrico pela NO sintetase é inibida. Segundo KUKREJA et al (2005), a ação vasodilatadora do Sildenafil contribui para a liberação de mediadores endógenos, tais como a adenosina e a bradiquinina a partir de células endoteliais. Tal reação desencadeia uma cascata que resulta na fosforilação de NO sintetase e a liberação de NO.

Estudos em suínos demonstraram que o citrato de sildenafil administrado por via intravenosa, em modelo de lesão de isquemia/reperfusão, protegeu as estruturas vasculares renais destes animais (LLEDO-GARCIA et al., 2011). KÜÇÜK et al. (2012) avaliaram rins de ratos submetidos à isquemia/reperfusão, demonstrando que animais tratados com citrato de sildenafil exibiram menor índice de células apoptóticas e espécies reativas de oxigênio.

Algumas alternativas para controlar as repercussões negativas do pneumoperitônio também têm sido pesquisadas, como uso de inibidores do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, hiper-hidratação e pré-condicionamento renal (AVRAAMIDOU et al., 2012; DOLKART et al., 2014).

AVRAAMIDOU et al. (2012) provocaram um pneumoperitônio com baixa pressão por 15 minutos antes de chegar à pressão desejada. Analisando indicadores hemodinâmicos, bioquímicos e inflamatórios, foi observado que o pré-condicionamento foi positivo no intuito de diminuir os efeitos adversos do pneumoperitônio. Os autores alertam para o fato de que o aumento da pressão intra-abdominal pode provavelmente refletir importantes implicações clínicas, especialmente em idosos ou pacientes com insuficiência cardíaca, renal ou hepática submetidos a procedimentos laparoscópicos.

Novos estudos são necessários para que, adicionalmente ao que já está exposto na literatura, as repercussões negativas relacionadas aos procedimentos minimamente invasivos vídeo-assistidos e suas etapas, sejam prevenidas e possam beneficiar todas as classes de pacientes submetidas a estes procedimentos cirúrgicos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABASSI, Z.; BISHARA, B.; KARRAM, T.; KHATIB, S.; WINAVER, J.; HOFFMAN, A. Adverse effects of pneumoperitoneum on renal function: involvement of the endothelin and nitric oxide systems. *American Journal Physiology – Regulatory, Integrative & Comparative*, v. 294, p.842-850, 2008

AEBI, H. Catalase In Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis academic New York: Academic Press*, p. 673-677, 1974

AVRAAMIDOU, A.; MARINIS, A.; ASONITIS, S.; PERREA, D.; POLYMENEAS, G.; VOROS, D.; ARGYRA, E. The impact of ischemic preconditioning on hemodynamic, biomechanical and inflammatory alterations induced by intra-abdominal hypertension: an experimental study in a porcine model. *Langenbeck's Archive of Surgery*, v.397(8), p.1333-1341, 2012

BALTATZIS, M.; PAVLIDIS, T. E.; OUROUMIDIS, O.; KOLIAKOS, G.; NIKOLAIDOU, C.; VENIZELOS, I.; MICHOPPOULOU, A.; SAKANTAMIS, A. Aprotinin reduces oxidative stress induced by pneumoperitoneum in rats. *Journal of Surgical Research*, v.189, Issue 2, p. 328-248, 2014

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v.29, p.113-123, 2006

BISHARA, B.; KARRAM, T.; KHATIB, S.; RAMADAN, R.; SCHWARTZ, H.; HOFFMAN, A.; ABASSI, Z. Impact of pneumoperitoneum on renal perfusion and excretory function: beneficial effects of nitroglycerine. *Surgical Endoscopy*, v.23(3), p.568-576, 2009

BONVENTRE, J. V.; YANG, L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Journal of Clinical Investigation*, v.21, p.4210-4221, 2011

CHUANG, A. T.; STRAUSS, J. D.; MURPHY, R. A.; STEERS, W. D. Sildenafil, a type cGMP phosphodiesterase inhibitor, specifically amplifies endogenous cGMP-dependent relaxation in rabbit corpus cavernosum smooth muscle in vitro. *Journal of Urology*, v.160 (1), p.257:261, 1998

DOLKART, O.; KHOURY, W.; AMAR, E.; WEINBROUM, A. A. Pneumoperitoneum in the presence of acute and chronic kidney injury: an experimental model in rats. *Journal of Urology*, v.192(4), p.1266-1271, 2014

ELAHI, M. M.; KONG, Y. X.; MATAT, B. M. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v.2, p.259-269, 2009

EWING, J. F.; JANERO, D. R. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide degenerator. *Analytical Biochemistry*, v.232, p.243-248, 1995

FAHY, B. G.; HASNAIN, J. U.; FLOWERS, J. L.; PLOTKIN, J. S.; ODONKOR, P.; FERGUSON, M. K. Transesophageal echocardiographic detection of gas embolism and cardiac valvular dysfunction during laparoscopic nephrectomy. *Anesthesia and Analgesia Journal*, v.88, p.500-504, 1999

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.43, p.61-68, 1997

GALVÃO, A. L. B. Estresse oxidativo nos estágios finais da doença renal crônica em pequenos animais. *Archives of Veterinary Science*, v.14, p.178-186, 2009

GIBSON, A. Phosphodiesterase 5 inhibitors and nitrogenic transmission from zaprinast to sildenafil. *European Journal of Pharmacology*, v.411(1-2), p.1-10, 2001

GIORDANO, D.; DE STEFANO, M. E.; CITRO, G.; MODICA, A.; GIORGI, M. Expression of cGMP-binding cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5) in mouse tissues and cell lines using an antibody against the enzyme amino-terminal domain. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1539 (1-2), p.16-27, 2001

GUPTA, A.; WATSON, D. I. Effect of laparoscopy on immune function. *British Journal of Surgery*, v.88(10), p.1296-1306, 2001

GUTT, C. N.; HOLLANDER, D.; BRIER, C. H.; KIM, Z. G.; LORENZ, M. Influence of laparoscopy and laparotomy on systemic and peritoneal T lymphocytes in a rat model. *International Journal of Colorectal Disease*, v.16(4), p.216-220, 2001

HANLY, E. J.; MENDOZA-SAGAON, M.; MURATA, K.; HARDACRE, J.; TALAMINI, M. A. CO₂ pneumoperitoneum modifies the inflammatory response to sepsis. *Annals of Surgery*, v.237(3), p.343-350, 2003

HAZEBROEK, E. J.; DE BRUIN, R. W.; BOUVY, N. D.; MARQUET, R. L.; BONTHUIS, F.; BAJEMA, I. M.; HAYES, D. P.; IJZERMANS, J. N.; BONJER, H. J. Longterm impact of pneumoperitoneum used for laparoscopic donor nephrectomy on renal function and histomorphology in donor and recipient rats. *Annals of Surgery*, v.237, p.351-357, 2003

KHOURY, W.; SCHREIBER, L.; SZOLD, A.; KLAUSNER, J. M.; WIENBROUM, A. A. Renal oxidative stress following CO₂ pneumoperitoneum –like conditions. *Surgical Endoscopy*, v.23(4), p.776-782, 2009

KUKREJA, R. C.; SALLOUM, F.; DAS, A.; OCKAILI, R.; YIN, C.; BREMER, Y. A.; FISHER, P. W.; WITTKAMP, M.; HAWKINS, J.; CHOU, E.; KUKREJA, A. K.; WANG, X.; MARWAHA, V. R.; XI, L. Pharmacological preconditioning with sildenafil: basic mechanisms and clinical implications. *Vascular Pharmacology*, v.42, p.219-232, 2005

KÜÇÜK, A.; YUCEL, M.; ERKASAP, N.; TOSUN, M.; KOKEN, T.; OZKURT, M.; ERKASAP, S. The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Molecular Biology Reports*, v.39(10), p.9775-9782, 2012

LAI, H.; MO, X.; YANG, Y.; XIAO, J.; HE, K.; CHEN, J.; LIN, Y. Association between duration of carbon dioxide pneumoperitoneum during laparoscopic abdominal surgery and hepatic injury: a meta-analysis. *PLOS One*, v.11, e104067, 2014

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas*, v.37, p.293-303, 2001

LLEDO-GARCIA, E.; SUBIRA-RIOS, D.; OGAYA-PINIES, G.; TEJEDOR-JORGE, A.; CANIZO-LOPEZ, J. F.; HERNANDEZ-FERNANDEZ, C. Intravenous sildenafil as a preconditioning drug against hemodynamic consequences of warm ischemia-reperfusion on the kidney. *Journal of Urology*, v.186(1), p.331-33, 2011

MEDEIROS, P. J.; VILLARIM NETO, A.; LIMA, F. P.; AZEVEDO, I. M.; LEÃO, L. R.; MEDEIROS, A. C. Effect of sildenafil in renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.25(6), p.490-95, 2010

MOHEY, V.; SINGH, M.; PURI, N.; KAUR, T.; PATHAK, D.; SINGH, A. P. Sildenafil obviates ischemia-reperfusion injur-induced acute kidney injury through peroxisome proliferator-activated receptor γ agonism in rats. *Journal of Surgical Research*, v.201(1), p.69-75, 2016

MORALES, A.; GINGELL, C.; COLLINS, M.; WICKER, P. A.; OSTERLOH, I. H. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA) in the treatment of erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, v.10, p.69-73, 1998

MORCOS, K. S. Can selective inhibitors of cyclic guanosine monophosphate (cGMP)-specific phosphodiesterase type 5 (PDE 5) offer protection against contrast induced nephropathy? *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, v.4(4), p.214-215, 2014

NIKI, E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochimica et Biophysica Acta* <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.03.020>, 2013

OCKAILI, R.; SALLOUM, F.; HAWKINS, J.; KUKREJA, R. C. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening mitochondrial K (ATP) channels in rabbits. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, v.283, p.1263-1269, 2002

ORUC, O.; INCI, K.; AKI, F. T.; ZEYBEK, D.; MUFTUOGLU, S. F.; KILINC, K. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte infiltration. *Acta Histochemica*, v.112, p.337-344, 2010

ÖZTÜRK, S. A.; CEYLAN, C.; SEREL, T. A.; DOLUOGLU, O. G.; SOYUPEK, A. S.; GUZEL, A.; ÖZORAK, A.; UZ, E.; SAVAS, H. B.; BASPINAR, S. Protective effect of theophylline on renal functions in experimental pneumoperitoneum model. *Renal Failure*, v.37(6), p.1044-1049, 2015

PAGLIUSO, R. G.; GOLONI-BERTOLLO, E. M.; ABBUD FILHO, M.; PAVARINO-BERTELLI, E. C. Estresse oxidativo e disfunção crônica do enxerto renal. *Arquivos de Ciências da Saúde*, v.13, p.223-227, 2006

PARKINSON, T. J. Progress towards less invasive veterinary surgery. *Veterinary Record*, v.171, p.67-68, 2012

REFFELMANN, T.; KLONER, R. A. Phosphodiesterase 5 inhibitors: are they cardioprotective. *Cardiovascular Research*, v.83, p.204-212, 2009

RIFAIOGLU, M. M.; DAVARCI, M.; NACAR, A.; ALP, H.; CELIK, M.; SEFIL, N. K. In Caffeic acid phenetyl ester (CAPE) protects against acute urogenital injury following pneumoperitoneum in the rat. *Renal Failure*, v.36(1), p.98-103, 2013

ROMEO, C.; IMPELLIZZERI, P.; ANTONUCCIO, P.; TURIACO, N.; CIFALA, S.; GENTILE, C.; PASSANITI, M.; MARINI, H.; SQUADRITO, F.; ALTAVILLA, D. Peritoneal macrophage activity after laparoscopy or laparotomy. *Journal of Pediatric Surgery*, v.38(1), p.97-101, 2013

ROSANO, G. M.; AVERSA, A.; VITALE, C.; FABBRI, A.; FINI, M.; SPERA, G. Chronic treatment with Tadalafil improves endothelial function in men with increased cardiovascular risk. *European Urology*, v.47, p.214-222, 2005

SAMMOUR, T.; MITTAL, A.; LOVEDAY, B. P. T.; KAHOKHEHR, A.; PHILIPS, A. R. J.; WINSOR, J. A.; HILL, A. G. Systematic review of oxidative stress associated with pneumoperitoneum. *British Journal of Surgery*, v.96, p.836-850, 2009

SANTOS, F. B.; KOFF, W. J.; GREZZANA FILHO, T. J. M.; DE ROSSI, S. D.; TREIS, L.; BONA, S. R.; PÊGAS, K. L.; KATZ, B.; MEYER, F. S.; MARRONI, N. A. P.; CORSO, C. O. Oxidative stress evaluation of ischemia and reperfusion in kidneys under various degrees of hypothermia in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.28, p.568-573, 2013

SANDNER, P.; HÜTTER, J.; TINEL, H.; ZIEGELBAUER, K.; BISCHOFF, E. PDE5 inhibitors beyond erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, v.19, p.533-543, 2007

SCHACHTRUPP, A.; TOENS, C. H.; HOER, J.; KLOSTERHALFEN, B.; LAWONG, A. G.; SCHUMPELICK, V. A 24h pneumoperitoneum leads to multiple organ impairment in a porcine model. *Journal of Surgical Research*, v.106, p.37-45, 2002

SEGURO, A. C.; FIGUEIREDO, L. F. P. M; SHIMIZU, M. H. M. N-acetylcysteine (NAC) protects against a ute kidney injury (AKI) following prolonged pneumoperitoneum in the rat. *Journal of Surgical Research*, v.175(2), p.312-315, 2012

SESTI, C.; FLORIO, V.; JOHNSON, E. G.; KLONER, R.A. The phosphodiesterase-5 inhibitor Taladafil reduces myocardial infarct size. *International Journal of Impotence Research*, v.19, p.55-61, 2007

SHARFUDDIN, A. A.; MOLITORIS, B. A. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, v.7, p.189-200, 2011

SOUZA, D. B.; COSTA, W. S.; CARDOSO, L. E.; BENCHIMOL, M.; PEREIRA-SAMPAIO, M. A.; SAMPAIO, F. J. Does prolonged pneumoperitoneum affect the kidney? Oxidative stress, stereological and electron microscopy study in a rat model. *International Brazilian Journal of Urology*, v.39(1), p.30-36, 2013

THOMAS, M.K.; FRANCIS, S.H.; CORBIN, J.D. Characterization of a purified bovine lung cGMP-binding cGMP phosphodiesterase. *Journal of Biological Chemistry*, v265(25), p.14964-14970, 1999

WIESENTHAL, J. D.; FAZIO, L. M.; PERKS, A. E.; BLEW, B. D.; MAZER, D.; HARE, G.; HONEY, R. J.; PACE, K. T. Effect of pneumoperitoneum on renal tissue oxygenation and blood flow in a rat model. *Urology*, v.77(6), p.1508-1515, 2011

CAPÍTULO 2

4. INTRODUÇÃO

A laparoscopia não está isenta de pontos críticos que possam cursar com repercussões clínicas negativas no pós-operatório, como a diminuição transitória da função renal associada ao pneumoperitônio.

A lesão renal, transitória ou não, pode ser relacionada à injúria de isquemia/reperfusão. Esta, por sua vez, está associada ao estresse oxidativo, que resulta no desequilíbrio entre a produção de radicais de espécies de oxigênio, antioxidantes e os processos de reparo tecidual (ELAHI et al., 2009).

Com o intuito de minimizar estas alterações, os inibidores da fosfodiesterase 5 (PDE5), em especial o citrato de sildenafil, é citado na literatura. Em seu trabalho, ÜCKERT et al. (2013), observou que o citrato de sildenafil pode servir como alternativa terapêutica na doença renovascular, expandindo-se as possibilidades de utilização convencional de inibidores de PDE 5. Esta observação pode ser confirmada por CHOI et al. (2009), que classifica o citrato de sildenafil como uma alternativa terapêutica promissora na prevenção do estresse oxidativo.

O aumento da pressão intra-abdominal, fundamental para a realização do procedimento laparoscópico, pode ser inócuo em pacientes hígidos, mas cursar com importantes implicações clínicas, especialmente em idosos, pacientes com insuficiência cardíaca, renal ou hepática. Os mecanismos exatos que levam às alterações renais devido ao pneumoperitônio ainda não foram totalmente determinados, apesar de muitas pesquisas, mas podem incluir o efeito direto do aumento da pressão abdominal, os efeitos indiretos da absorção de CO₂, fatores neuroendócrinos e danos teciduais causados pelo estresse oxidativo (SODHA et al., 2015). A investigação de possibilidades que diminuam o risco de lesão em órgãos já comprometidos pode ser uma importante ferramenta terapêutica na diminuição da morbidade de pacientes de risco.

5. OBJETIVO

O presente estudo propõe avaliar se o pré-tratamento com Sildenafil atenua os efeitos das alterações induzidas pelo processo de isquemia/reperfusão renal em ratos submetidos ao pneumoperitônio.

6. METODOLOGIA

6.1. Animais de Experimentação

O presente estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (Protocolo CEUA 1085/2014).

Foram utilizados 26 ratos Wistar, machos, jovens, com peso médio de 450 g. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura constante ($21 \pm 5^{\circ}\text{C}$), umidade ($70 \pm 10\%$) e luminosidade de 12 horas, com acesso livre para ração normal para ratos e água *ad libitum*.

6.2. Grupos Experimentais

Os animais foram aleatoriamente divididos, totalizando 3 animais por caixa, sendo então definidos três grupos experimentais:

Grupo Sham (10 animais) – ratos não suplementados, submetidos ao pneumoperitônio.

Grupo S/P (10 animais) – ratos suplementados com 1mg/Kg de citrato de sildenafil¹, via oral, 1 hora antes do pneumoperitônio.

Grupo Controle (6 animais) – ratos não suplementados, não submetidos ao pneumoperitônio, utilizados para controle de normalidade do estresse oxidativo.

¹ Citrato de Sildenafil (1mg/ml), manipulada na Farmácia Cruz Vermelha, Botucatu

6.3. Seqüência Experimental

Antes da realização do procedimento, os animais foram anestesiados com protocolo dissociativo utilizando associação de cloridrato de quetamina (50 mg/Kg)² e Xilazina (10 mg/Kg)³, via intramuscular. Após tricotomia cervical e abdominal, os animais foram colocados em decúbito dorsal e foram fixados à mesa operatória aquecida (36-37°C), sendo então executada antissepsia da região com clorexidine⁴. A manutenção anestésica foi feita com Isoflurano⁵, na concentração de 2%, mediante uso de máscara e respiração espontânea. A monitorização da saturação de oxigênio (SpO₂) foi feita com oxímetro de pulso, posicionado na extremidade de um dos membros torácicos do animal e a temperatura foi aferida por termômetro digital, via retal. Adicionalmente, a frequência cardíaca também foi acompanhada por doopler posicionado na região torácica ventral esquerda (Figura 2). Após obtenção do plano anestésico adequado para a manipulação cirúrgica, a artéria carótida foi dissecada, reparada e canulada com cateter venoso 24G, devidamente heparinizado e ocluído com PRN (Figura 3A e 3B). A fixação do cateter foi feita com cola à base de cianoacrilato. Posteriormente, o acesso arterial foi acoplado ao monitor multiparamétrico Dixtall para acompanhamento e registro da pressão arterial diastólica (PAD), média (PAM), sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC).

² Vetaset® (100mg/ml). São Paulo: Zoetis

³ Anasedan® (20mg/ml). São Paulo: CEVA

⁴ Asseptic® (10mg/ml). São Paulo: Neo Química

⁵ Vetflurano® (100mg/100ml). São Paulo: Virbac



FIGURA 2. Rato sob anestesia geral inalatória, com máscara, monitoramento com oxímetro de pulso em membro torácico, termômetro digital por via retal e posicionamento do doopler na região torácica ventral esquerda. Observe a tricotomia na região cervical para canulação da artéria carótida direita e em região abdominal para posterior pneumoperitônio.

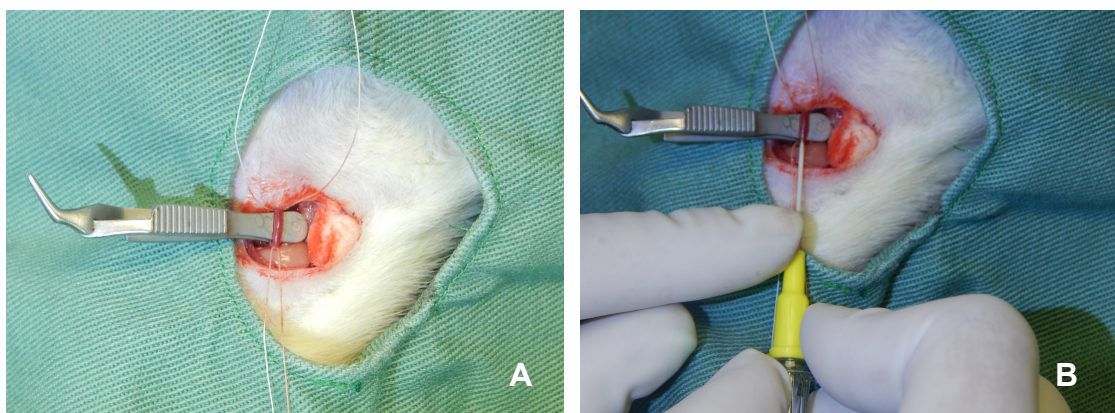


FIGURA 3. Dissecção da artéria carótida direita do rato, com dois fios de reparo e apoiada sobre clamp tipo *bulldog* (3A) e punção arterial com cateter 24G (3B).

Uma hora antes a instalação do pneumoperitônio, os animais do grupo S/P receberam 1 mg/Kg de citrato de sildenafil, via gavagem.

Para a instalação do pneumoperitônio foi inserido um cateter venoso 20G na cavidade abdominal (Figuras 4A e B), que posteriormente, foi conectado ao insuflador digital Karl Storz®, sendo mantida pressão máxima de CO₂ em 12 mmHg, por 60 minutos.

Desde a instalação do pneumoperitônio até cinco minutos após seu término, valores de frequência cardíaca, frequência respiratória, saturação de O₂ e das pressões invasivas (PAD, PAM e PAS), foram continuamente monitorados e anotados em momentos previamente determinados, sendo M1 – momento que antecedeu a confecção do pneumoperitônio (valores basais dos parâmetros em estudo), M2 – 15 minutos de pneumoperitônio, M3 – 30 minutos de pneumoperitônio e M4 – logo após o término do pneumoperitônio.

Em M1 (antes do início do pneumoperitônio), M3 e M4 foram colhidas amostras de sangue arterial para hemogasometria.

Ao final do procedimento, os animais permaneceram ainda em oxigenação e, aproximadamente após quinze minutos, foram realocados em caixas plásticas, com água e ração *ad libitum*.

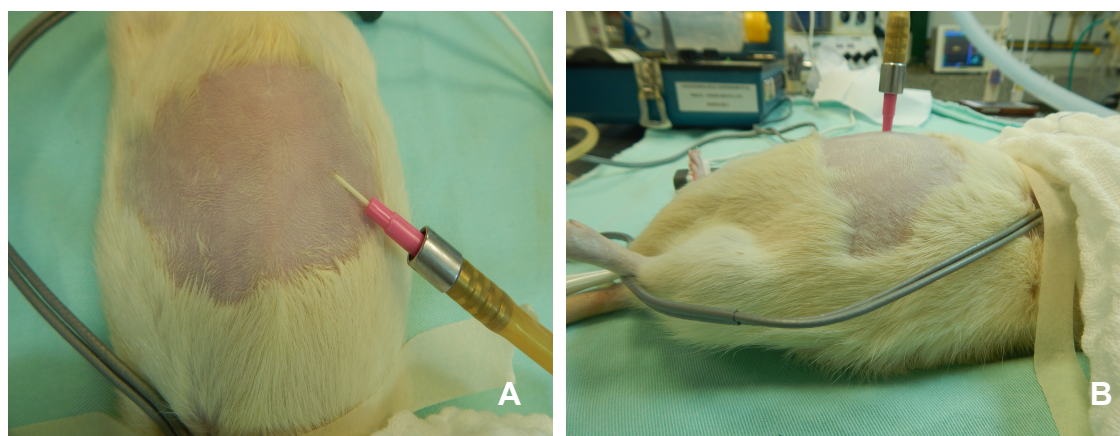


FIGURA 4. Rato anestesiado com punção abdominal com cateter 20G, acoplado ao insuflador e pneumoperitônio instalado (A e B).

6.4. Eutanásia

A eutanásia foi realizada 24 horas após o término do penumoperitônio, fazendo-se uso de cloridrato de quetamina (50mg/kg) e xilazina (10mg/kg), por via intra-muscular, seguido por isoflurano inalatório, até o momento de registro de parada cardíaco-respiratória (conforme métodos descritos no Anexo I da Resolução CFMV nº 1000/ 2012).

6.5. Análise do Estresse Oxidativo

Após eutanásia, os dois rins de cada animal foram colhidos e seccionados longitudinalmente, sendo acondicionados em freezer -80°C.

Para avaliação do estresse oxidativo, aproximadamente 200mg de tecido foram homogeneizados em Potter Elvehjem, com pistilo de teflon, na presença de tampão fosfato de sódio (0,01M) pH 7,0. Os homogeneizados foram centrifugados a 12 000 xg, durante 15 minutos, a -4°C. O sobrenadante foi utilizado para as determinações da atividade das enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase, catalase, superóxido dismutase e também da concentração do hidroperóxido lipídico.

6.5.1. Glutathiona Peroxidase (GSH-Px)

A atividade da glutathiona peroxidase foi determinada na presença de peróxido de hidrogênio. A mistura de reação foi preparada com tampão fosfato de sódio, NADPH₂, azida sódica, EDTA, glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona redutase. Através da oxidação do NADPH₂ a 340nm na presença da glutathiona redutase, a qual catalisa a redução da glutathiona oxidada (GSSG), determinou-se a atividade da GSH-Px.

6.5.2. Catalase

A atividade da catalase foi determinada em tampão fosfato pH 7,0, utilizando 0,5mL de amostra e peróxido de hidrogênio (30%). As leituras foram realizadas à 240nm (AEBI, 1974).

6.5.3. Superóxido Dismutase

Para determinar a atividade da superóxido dismutase foi utilizada a técnica de Ewing e Janero (1995), tendo como base a capacidade inibitória da enzima na redução do nitroblue-tetrazólico (NBT) por radicais livres gerados pela hidroxilamina em meio alcalino (pH 10). A hidroxilamina gera fluxo de O_2^- do NBT para blue-formazana em temperatura ambiente. Quando a amostra foi adicionada, a velocidade de redução do NBT foi inibida, conforme a porcentagem de SOD presente na amostra.

6.5.4. Hidroperóxido Lipídio

A concentração de hidroperóxido lipídio foi determinada através da oxidação do sulfato ferroso amoniacal (Fe^{2+}) na presença de alaranjado de xilenol, ácido sulfúrico e butilato hidroxitolueno (BHT) em metanol à temperatura ambiente. O Fe^{3+} reage com alaranjado de xilenol e forma cromógeno, cuja intensidade de coloração foi medida espectrofotometricamente (JIANG et al, 1991).

6.6. Análise Estatística

Foi realizado um teste de normalidade para verificar a distribuição dos dados. Para as variáveis que apresentaram uma distribuição simétrica, ajustou-se um modelo linear generalizado (ANOVA), seguido de Tukey para as comparações múltiplas. Para as variáveis que apresentaram uma distribuição assimétrica, ajustou-se um modelo linear generalizado com distribuição gama, para realizar as comparações entre os grupos controle, tratado e não tratado. Para as comparações em medidas repetidas no tempo, foi ajustado um modelo Misto, seguido de Tukey para realizar as comparações múltiplas entre grupos versus momento.

Considerou-se $p < 0,05$ como nível de significância.

O programa utilizado foi o programa SAS for Windows versão 9.2.

7. RESULTADOS

7.1 Variáveis Hemodinâmicas

7.1.1. Pressão Arterial Média (PAM)

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão da PAM, aferidos nos momentos 1, 2, 3 e 4.

TABELA 1. Valores médios, em mmHg, e respectivos desvios-padrão da variável pressão arterial média dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 15 minutos de pneumoperitônio (M2), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, $p < 0,05$.

PAM	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	70,20 ($\pm 18,93$) ^{aA}	67,90 ($\pm 13,70$) ^{aA}
Momento 2	62,00 ($\pm 9,94$) ^{aA}	64,33 ($\pm 2,92$) ^{aA}
Momento 3	61,90 ($\pm 7,23$) ^{aA}	67,00 ($\pm 6,39$) ^{aA}
Momento 4	68,40 ($\pm 13,28$) ^{aA}	72,30 ($\pm 14,62$) ^{aA}

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) da pressão arterial média observada no grupo tratado com citrato de sildenafil (grupo S/P), quando comparado ao grupo Sham, em nenhum dos 4 momentos estudados.

7.1.2. Frequência Cardíaca (FC)

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão da FC, aferidos nos momentos 1, 2, 3 e 4.

TABELA 2. Valores médios, em bpm, e respectivos desvios-padrão da variável frequência cardíaca dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 15 minutos de pneumoperitônio (M2), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, $p < 0,05$.

FC	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	227,7 ($\pm 28,86$) ^{aA}	220,80 ($\pm 39,09$) ^{aA}
Momento 2	211,60 ($\pm 31,82$) ^{aA}	203,80 ($\pm 38,36$) ^{aA}
Momento 3	204,5 ($\pm 35,27$) ^{aA}	194,70 ($\pm 48,40$) ^{aA}
Momento 4	197,50 ($\pm 40,48$) ^{aA}	197,70 ($\pm 51,83$) ^{aA}

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) da frequência cardíaca observada no grupo tratado com citrato de sildenafil (grupo S/P), quando comparado ao grupo Sham, em nenhum dos 4 momentos.

7.1.3. Frequência Respiratória (FR)

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão da FR, aferidos nos momentos 1, 2, 3 e 4.

TABELA 3. Valores médios, em mpm, e respectivos desvios-padrão da variável frequência respiratória dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 15 minutos de pneumoperitônio (M2), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, $p < 0,05$.

FR	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	58,20 ($\pm 24,77$) ^{aA}	51,60 ($\pm 28,27$) ^{aA}
Momento 2	48,80 ($\pm 23,71$) ^{aA}	55,20 ($\pm 20,53$) ^{aA}
Momento 3	48,80 ($\pm 22,55$) ^{aA}	52,80 ($\pm 18,65$) ^{aA}
Momento 4	50,20 ($\pm 20,96$) ^{aA}	54,60 ($\pm 19,11$) ^{aA}

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) da frequência respiratória observada no grupo tratado com citrato de sildenafil (grupo S/P), quando comparado ao grupo Sham, em nenhum dos 4 momentos estudados.

7.2. Variáveis de Oxigenação e Ventilação

7.2.1. pH

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão do pH, aferidos nos momentos 1, 3 e 4.

TABELA 4. Valores médios e respectivos desvios-padrão da variável pH dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, $p<0,05$.

PAM	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	7,37 ($\pm 0,09$) ^{aA}	7,37 ($\pm 0,06$) ^{aA}
Momento 3	7,2 ($\pm 0,15$) ^{aA}	7,17 ($\pm 0,09$) ^{aA}
Momento 4	7,2 ($\pm 0,16$) ^{aA}	7,24 ($\pm 0,06$) ^{aA}

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) da variação do pH observado no grupo tratado com citrato de sildenafil (grupo S/P), quando comparado ao grupo Sham, em nenhum dos 3 momentos em que foi colhida amostra para hemogasometria.

7.2.2. Pressão Parcial de O₂ (PaO₂)

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão da PaO₂, aferidos nos momentos 1, 3 e 4.

TABELA 5. Valores médios, em mmHg, e respectivos desvios-padrão da variável PaO₂ dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, p<0,05.

PaO ₂	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	169,07 (±108,77)^{aA}	226,84 (±103,16)^{aA}
Momento 3	199,5 (±86,00)^{aA}	186,28 (±102,98)^{aA}
Momento 4	191,87 (±96,7)^{aA}	209,94 (±82,49)^{aA}

Não foi observada diferença significativa com relação a pressão de O₂ durante o pneumoperitônio, entre os grupos Sham e S/P (P>0,05), em nenhum dos 3 momentos avaliados.

7.2.3. Pressão Parcial de CO₂ (PaCO₂)

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão da PaCO₂, aferidos nos momentos 1, 3 e 4.

TABELA 6. Valores médios, em mmHg, e respectivos desvios-padrão da variável PaCO₂ dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, p<0,05.

PaCO ₂	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	42,97 (±11,58)^{aA}	45,29 (±11,47)^{aA}
Momento 3	47,63 (±21,52)^{aA}	56,85 (±28,25)^{aA}
Momento 4	52,77 (±24,73)^{aA}	50,04 (±15,63)^{aA}

Não houve diferença significativa entre os grupos Sham e Grupo S/P nos momentos ($p>0,05$), com relação à variação da pressão parcial de CO_2 , em nenhum dos 3 momentos avaliados.

7.2.4. Saturação de O_2 (Sat O_2)

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão da Sat O_2 , aferidos nos momentos 1, 3 e 4.

TABELA 7. Valores médios e respectivos desvios-padrão da variável Sat O_2 dos grupos Sham e S/P, nos momentos basal (M1), 30 minutos de pneumoperitônio (M3) e ao reestabelecer a pressão intra-abdominal normal (M4). Letras minúsculas comparam os grupos e letras maiúsculas comparam os momentos no mesmo grupo. Letras diferentes, $p<0,05$.

Sat O_2	Grupo Sham	Grupo S/P
Momento 1	97,15 ($\pm 11,58$)^{aA}	98,96 ($\pm 1,26$)^{aA}
Momento 3	98,42 ($\pm 1,50$)^{aA}	97,94 ($\pm 1,72$)^{aA}
Momento 4	97,57 ($\pm 2,78$)^{aA}	98,97 ($\pm 0,60$)^{aA}

Não houve diferença significativa com relação à média da saturação de O_2 entre os grupos Sham e S/P durante o pneumoperitônio ($P>0,05$), em nenhum dos momentos avaliados.

7.3. Dados do Estresse Oxidativo

A tabela abaixo apresenta os valores médios e desvio-padrão das enzimas antioxidantes estudadas para avaliar o estresse oxidativo.

TABELA 8. Valores médios e respectivos desvios-padrão das enzimas antioxidantes estudadas para determinar o estresse oxidativo. Letras diferentes, $p < 0,05$.

	Controle	Grupo Sham	Grupo S/P
Hidroperóxido nmol/g de tecido	224,17(±33,6) ^a	285,34(±46,59) ^b	232,75(±46,92) ^a
CAT micromol/g de tecido	25,83(±2,37) ^a	15,38(±4,01) ^b	25,09(±4,63) ^a
SOD nmol/mg de proteína	11,86(±1,92) ^a	20,29(±3,97) ^b	13,78(±1,86) ^a
GPx nmol/mg de proteína	8,93(±0,86) ^a	6,24(±1,94) ^b	8,12(±1,40) ^a

Observou-se com relação à atividade das enzimas antioxidantes que entre o grupo controle e o grupo S/P (que recebeu o citrato de sildenafil) não houve diferenças significativas ($p > 0,05$). Porém entre estes grupos (controle e S/P) e o grupo Sham, houve diferença significativa ($p < 0,05$), para a atividade destas enzimas.

8. DISCUSSÃO

Os rins são órgãos sensíveis ao déficit de perfusão e injúria de isquemia/reperfusão, quando submetidos ao pneumoperitônio. CHOI et al. (2009) descrevem como consequências da injúria de isquemia/reperfusão renal, a apoptose de células tubulares, formação de radicais livres de oxigênio, disfunção mitocondrial, geração de citocinas inflamatórias e sequestro de neutrófilos.

Com o intuito de prevenir ou minimizar os danos causados pela injúria de isquemia/reperfusão renal durante o pneumoperitônio, estudos sugerem pré-tratamento com determinadas substâncias incluindo aprotinina (BALTATZIS et al., 2014), N-acetilcisteína (NAC) (SEGURO et al., 2012), Teofilina (ÖZTÜRK et al., 2015) e inibidores da fosfodiesterase (ORUC et al., 2010; LLEDO-GARCIA et al., 2011). Neste estudo, propusemos avaliar o efeito do citrato de sildenafil no estresse oxidativo renal. A suplementação do

citrato de sildenafil 60 minutos antes da indução do pneumoperitônio e consequente isquemia renal foi baseada em modelos experimentais de isquemia do miocárdio (KUKREJA et al, 2005; BREMER et al, 2005). A dose de citrato de sildenafil utilizada (1mg/Kg) via oral, seguiu modelos descritos por LLEDO-GARCIA et al (2007,2008), que encontraram níveis plasmáticos eficazes.

Variações de modelos experimentais para o estudo das lesões decorrentes da injúria de isquemia/reperfusão renal são descritos na literatura. Alguns destes estudos envolvem isquemia quente, caracterizada pelo clampeamento direto do hilo vascular renal (YURDAKUL et al., 2010, MEYER et al., 2011, CONG et al., 2013). Outros utilizam a técnica de resfriamento, como ALLAM et al. (2010), cuja hipotermia foi realizada por meio da circulação de água fria por uma bolsa ao redor do rim ou SANTOS et al. (2013) que utilizaram solução salina congelada em volta do rim clampeado.

Assim como em nossa metodologia, outros estudos também empregaram o pneumoperitônio como agente causador da isquemia renal, tanto em suínos (SCHACHTRUPP et al., 2002; LLEDO-GARCIA et al., 2011; AVRAAMIDOU et al., 2012) como em ratos (WIESENTHAL et al., 2011; BARROS et al., 2012; RIFAIOGLU et al., 2013; BALTATZIS et al., 2014; DOLKART et al., 2014; ÖZTÜRK et al., 2015). Tais estudos tem descrito que a insuflação do abdomen por gás, levando ao aumento da pressão intra-abdominal (PIA), mesmo que pequeno, não está totalmente livre de efeitos colaterais (ÇAI et al., 2006). Entre estes modelos experimentais, existe grande divergência quanto à PIA que favorece a lesão de isquemia.

SCHÄFER et al (2001), em estudo retrospectivo colheram dados de PIA em diferentes espécies (ratos, porcos e humanos) e correlacionaram a alterações de fluxo sanguíneo hepático, esplâncnico e renal. Concluíram que a PIA deve ser mantida entre 8-12mmHg durante a laparoscopia, para minimizar alterações de fluxo sanguíneo e consequente estresse oxidativo. WIESENTHAL et al. (2011) avaliaram a correlação entre o fluxo sanguíneo renal e a oxigenação no parênquima renal em ratos, e descrevem que valores de PIA entre 5-10mmHg não promovem alteração do fluxo sanguíneo renal, sendo apenas observada com PIA superior a 15mmHg. AVITAL et al.

(2009) no entanto, referem que $PIA > 8\text{mmHg}$ em ratos corresponde a pressão muito mais elevada que a PIA utilizada na rotina de humanos. Apesar de todas as divergências observadas na literatura, optamos por utilizar a pressão de 12mmHg para o pneumoperitônio em nosso estudo, uma vez que em estudo piloto pudemos observar que a manutenção da PIA em 15mmHg causava exagerada distensão abdominal e comprometimento respiratório significativo, dificultando a manutenção do pneumoperitônio por 60 minutos.

Além disso, BERGUER et al. (1997) relatam que $PIA \geq 10\text{mmHg}$ foi causa de grave acidose em ratos, sugerindo maior sensibilidade da espécie ao pneumoperitônio quando comparada aos humanos. WIESENTHAL et al. (2011) refere ter encontrado alterações do pH apenas quando a pressão intra-abdominal exercida pelo pneumoperitônio foi maior ou igual a 15mmHg . A baixa perfusão nos órgãos abdominais pode ser considerada uma das causas da mudança de valores do pH, de acordo com SEFR et al. (2003), avaliando pacientes submetidos à colecistectomia com pressão intra-abdominal de 15mmHg . HYPOLITO et al. (2014), que avaliaram 67 pacientes submetidos a diferentes procedimentos laparoscópicos e observaram diferença estatística no pH entre os dois primeiros momentos (basal e quando instalado o pneumoperitônio e atingida a pressão intra-abdominal de 12mmHg), sem observar diferenças nos demais momentos. Em nosso estudo, apesar de não termos obtido diferença estatística na avaliação do pH, observamos uma tendência à acidose quando comparamos os 3 momentos, nos grupos Sham e S/P. Estas alterações revelam que o uso do sildenafil não impediu variações no pH.

Ainda no estudo de HYPOLITO et al. (2014), os autores referem que os pacientes não apresentaram aumento da $PaCO_2$ com PIA de 12mmHg , justificando que o aumento da pressão intra-abdominal provoca compressão capilar no abdome, limitando assim a absorção de CO_2 . SMITH & SANDE (2012) justificam esta manutenção da $PaCO_2$ pelo fato do aumento da pressão intra-abdominal empurrar o diafragma cranialmente, causando um aumento da pressão intra-torácica, diminuição da complacência pulmonar, depuração do CO_2 e diminuição do fluxo pulmonar. Em nosso estudo também não encontramos diferenças significativas nos valores da $PaCO_2$,

apesar da alteração de pH observada. Com relação aos resultados da pressão parcial de O₂ (em mmHg), também não foram observadas alterações significativas entre os grupos assim como entre os diferentes momentos no mesmo grupo. Podemos dizer que houve uma tendência destes valores serem ligeiramente melhores no grupo suplementado com sildenafil, quando comparados aos do grupo Sham, nos momentos 1 e 4, apresentando uma recuperação similar ao valor encontrado no momento basal, ao término do pneumoperitônio (momento 4). Estes resultados podem estar relacionados ao potencial efeito vasodilatador do Sildenafil, que é descrito por ALMEIDA et al., 2016.

SMITH & SANDE (2012) relatam que o aumento da pressão intra-abdominal leva à diminuição do preenchimento da veia cava caudal, causando diminuição do retorno venoso e consequente diminuição do débito cardíaco, resultando em hipotensão sistêmica. Nos ratos deste estudo, não foram observadas variações da pressão arterial média entre os grupos Sham e S/P. Apesar de não termos mensurado fluxo sanguíneo renal, não podemos considerar que a manutenção da PAM garantiu fluxo adequado e perfusão deste órgão uma vez que, adicionalmente ao efeito hipotensor sistêmico, o aumento da pressão intra-abdominal causado pelo pneumoperitônio tem efeito direto sobre a diminuição deste fluxo (BISHARA et al., 2009; WIESENTHAL et al., 2011). De acordo com BARROS et al (2012), casos de grave oligúria são relatados após o pneumoperitônio, devido à compressão do parênquima renal, veia renal e ureter, associados à diminuição do débito cardíaco e aumento na liberação de hormônios do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Segundo LLEDO-GARCIA et al. (2007) e LLEDO-GARCIA et al. (2008), o sildenafil é responsável por melhorar o padrão hemodinâmico, com aumento do fluxo sanguíneo e diminuição da resistência vascular renal, podendo diminuir os efeitos diretos do pneumoperitônio sobre os rins.

A avaliação do estresse oxidativo revelou valores da Superóxido Dismutase (SOD), Catalase e Glutathione Peroxidase similares nos animais do grupo controle e grupo suplementado com o Citrato de Sildenafil. Quando comparados ao grupo controle, os animais do grupo Sham apresentaram redução nos valores de CAT e GPx.

A enzima Superóxido Dismutase é a primeira a atuar na atividade anti-oxidante. Ela tem sua atividade regulada pela presença de radicais superóxido. Nas lesões de isquemia/reperfusão a produção de superóxidos está aumentada (ZHAN et al., 2004) e portanto é esperado que esta enzima apresente alta atividade. Em nosso estudo, verificamos que a atividade da SOD foi menor no grupo suplementado (S/P) quando comparado ao grupo Sham.

A diminuição da atividade da enzima Superóxido Dismutase também foi observada por outros autores (ZHAN et al., 2004; SABA et al., 2008; MITCHELL et al., 2010), que relacionaram esta queda ao sequestro dos radicais superóxidos pelo óxido nítrico e inativação via nitração da tirosina e oxidação de resíduos da tirosina.

A redução nos valores de Cat e GPx associado ao maior valor do subproduto hidroperóxido, refletem menor atividade enzimática nos animais do grupo Sham, sugerindo menor efeito protetor contra a agressão oxidativa quando comparado ao grupo S/P ou ao controle, facilitando a exposição das células à peroxidação lipídica.

Em seu estudo, DIAS et al. (2014) observaram que o Citrato de Sildenafil aumentou 1,7 vezes os níveis de NO e reduziu o excesso de produção de O_2^- e H_2O_2 em rins estenóticos de ratos. CHOI et al. (2009) relatam também que o Citrato de Sildenafil previne o estresse oxidativo por impedir a degradação do GMPc e regular positivamente o NO. Com base nestes estudos, quando comparamos aos resultados encontrados em nosso trabalho, podemos considerar que o sildenafil conferiu uma melhor proteção renal contra a agressão oxidativa induzida pelo pneumoperitônio, com alto potencial anti-oxidante, deixando a atividade das enzimas SOD, Cat e GPx próxima à de animais hígidos, seja pela capacidade de diminuir a produção de radicais livres no rim submetido à isquemia e reperfusão, seja pelo aumento do óxido nítrico e consequente sequestro dos radicais superóxidos.

PEREIRA et al. (2015) avaliaram a prevenção do estresse oxidativo em corações de ratos suplementados com tomate durante 3 meses. Similar aos nossos achados, os autores também encontraram menor valor do subproduto

de peroxidação lipídica hidroperóxido, além da alta atividade da Catalase, Glutathione Peroxidase e baixa atividade da Superóxido Dismutase, no grupo suplementado com tomate, devido à ação antioxidante do licopeno. Tais valores encontrados sugerem que assim como o tomate, o Citrato de Sildenafil promoveu melhora na atuação dos sistemas anti-oxidantes renais, já que a quantidade do produto da peroxidação lipídica foi diminuído como seu uso.

Alguns estudos descrevem que o Citrato de Sildenafil promove o aumento da atividade enzimática da Superóxido Dismutase, Catalase e Glutathione Peroxidase, além da função de potente vasodilatador (KOUPPARIS et al., 2005; EBRAHIMI et al., 2009; BALARINI et al., 2013 e RODRIGUES et al., 2013). Estes achados foram parcialmente encontrados em nosso estudo, que comprovou o aumento apenas da atividade das enzimas Catalase e Glutathione Peroxidase no grupo suplementado com Sildenafil. O aumento nos valores de CAT e GP refletem a maior atividade enzimática nos rins dos animais do grupo S/P, também conferindo a eles uma melhor proteção contra a agressão oxidativa, dificultando que as células sejam expostas à peroxidação lipídica, confirmada pelo menor valor do subproduto Hidroperóxido.

No grupo Sham, sem suplementação com sildenafil foram encontrados menores valores da atividade enzimática da CAT e GPx e aumento da quantidade do produto final da peroxidação lipídica, evidenciando nestes rins menor habilidade na prevenção do estresse oxidativo. Tal fato corrobora a hipótese apresentada por DIAS et al (2014), de que o Sildenafil apresenta efeitos anti-oxidantes. Esta afirmativa está baseada em estudos realizados em ratos com hipertensão renovascular tratados com Citrato de Sildenafil, que encontraram menor produção de O_2^- e H_2O_2 em rins com baixa perfusão,

A utilização prévia dos inibidores da fosfodiesterase 5 (PDE5) como protetor renal contra a lesão oxidativa tem sido estudada por outros autores. KÜÇÜK et al. (2012) também descrevem que o pré-tratamento com estas medicações tem ação benéfica nos efeitos destrutivos da injúria isquemia/reperfusão. Diferentemente da metodologia do nosso estudo, a lesão isquemia/reperfusão foi causada por clampeamento da artéria e veia

renal apenas do lado esquerdo. Eles usaram Citrato de Sildenafil e Tadalafil, no entanto a avaliação detalhada dos efeitos destes dois agentes mostrou que o Sildenafil cursou com maior benefício na prevenção da lesão renal causada pela isquemia/reperfusão em ratos, quando comparado ao Tadalafil.

9. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste estudo evidenciam que o pré-tratamento com Citrato de Sildenafil pode reduzir o estresse oxidativo no tecido renal, sem no entanto interferir significativamente nos parâmetros hemodinâmicos e ventilatórios de ratos submetidos ao pneumoperitônio. Entretanto, estudos adicionais são necessários para estabelecer a relação entre diminuição de estresse oxidativo e a função renal, bem como a viabilidade e eficácia do sildenafil na prática clínica.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABASSI, Z.; BISHARA, B.; KARRAM, T.; KHATIB, S.; WINAVER, J.; HOFFMAN, A. Adverse effects of pneumoperitoneum on renal function: involvement of the endothelin and nitric oxide systems. *American Journal Physiology – Regulatory, Integrative & Comparative*, v.294, p.842-850, 2008

AEBI, H. Catalase In Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis academic New York: Academic Press*, p.673-677, 1974

ALLAM, C. L.; XU, M.; MEDENDORP, A.; KNIGHT, R.; DIXON, P.; WELD, K. J. Determination of renal hypothermic temperature adequacy for renoprotection during ischemia using renal interstitial glycerol concentrations in a porcine model. *Urology*, v.2, p.508.e1-508.e4, 2010

ALMEIDA, L. S.; BARBOZA, J. R.; FREITAS, F. P. S.; PORTO, M. L.; VASQUEZ, E. C.; MEYRELLES, S. S.; GAVA, A. L.; PEREIRA, T. M. C. Sildenafil prevents renal dysfunction in contrast media-induced nephropathy in Wistar rats. *Human & Experimental Toxicology*, v.20. pii: 0960327115626582, 2016

AVITAL, S.; ITAH, R.; SZOMSTEIN, S.; ROSENTHAL, R.; INBAR, R.; SCKORNIK, Y. Correlation of CO₂ pneumoperitoneal pressures between rodents and humans. *Surgical Endoscopy*, v.23, p.50-54, 2009

AVRAAMIDOU, A.; MARINIS, A.; ASONITIS, S.; PERREA, D.; POLYMENEAS, G.; VOROS, D.; ARGYRA, E. The impact of ischemic preconditioning on hemodynamic, biomechanical and inflammatory alterations induced by intra-abdominal hypertension: an experimental study in a porcine model. *Langenbeck's Archive of Surgery*, v.397(8), p.1333-1341, 2012

BALARINI, C. M.; LEAL, M. A.; GOMES, I. B. S.; PEREIRA, T. M. C.; GAVA, A. L.; MEYRELLES, S. S.; VASQUEZ, E. C. Sildenafil restores endothelial function in the apolipoprotein E knockout mouse. *Journal of Translational Medicine*, v.11:3, 2013

BALTATZIS, M.; PAVLIDIS, T. E.; OUROUMIDIS, O.; KOLIAKOS, G.; NIKOLAIDOU, C.; VENIZELOS, I.; MICHOPPOULOU, A.; SAKANTAMIS, A. Aprotinin reduces oxidative stress induced by pneumoperitoneum in rats. *Journal of Surgical Research*, v.189, Issue 2, p.328-348, 2014

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v.29, p.113-123, 2006

BARROS, R. F.; MIRANDA, M. L.; de MATTOS, A. C.; GONTIJO, J. A.; SILVA, V. R.; IORIO, B.; BUSTORFF-SILVA, J. M. Kidney safety during surgical pneumoperitoneum: an experimental study in rats. *Surgical Endoscopy*, v.26(11), p.3195-3200, 2012

BERGUER, R.; CORNELIUS, T.; DALTON, M. The optimum pneumoperitoneum pressure for laparoscopic surgery in the rat model. A detailed cardiorespiratory study. *Surgical Endoscopy*, v.11, p.915-918, 1997

BISHARA, B.; KARRAM, T.; KHATIB, S.; RAMADAN, R.; SCHWARTZ, H.; HOFFMAN, A.; ABASSI, Z. Impact of pneumoperitoneum on renal perfusion and excretory function: beneficial effects of nitroglycerine. *Surgical Endoscopy*, v.23(3), p.568-576, 2009

BONVENTRE, J. V.; YANG, L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Journal of Clinical Investigation*, v.121, p.4210-4221, 2011

BREMER, Y.A.; SALLOUM, F.; OCKAILI, R.; CHOU, E.; MOSKOWITZ, W.B.; KUKREJA, R. C. Sildenafil citrate (Viagra) induces cardioprotective effects after ischemia/reperfusion injury in infant rabbits. *Pediatric Research*, v.57, p.22-27, 2005

ÇAY, A.; IMAMOGLU, M.; UNSAL, M. A.; AYDIN, S.; ALVER, A.; AKYOL, A.; SARIHAN, H. Does Anti-Oxidant Prophylaxis with Melatonin Prevent Adverse Outcomes Related to Increased Oxidative Stress Caused by Laparoscopy in Experimental Rat Model. *Journal of Surgical Research*, v.135, p.2-8, 2006

CHOI, D. E.; JEONG, J.Y.; LIM, B. J.; CHUNG, S.; CHANG, Y. K.; LEE, S. J.; NA, K. R.; KIM, S. Y.; SHIN, Y. T.; LEE, K. W. Pretreatment of sildenafil attenuates ischemia-reperfusion renal injury in rats. *American Journal Physiology - Renal Physiology*, 297(2), p.362-370, 2009

CHUANG, A. T.; STRAUSS, J. D.; MURPHY, R. A.; STEERS, W. D. Sildenafil, a type cGMP phosphodiesterase inhibitor, specifically amplifies endogenous cGMP-dependent relaxation in rabbit corpus cavernosum smooth muscle in vitro. *Journal of Urology*, v.160 (1), p.257:261, 1998

CONG, G.; CUI, L.; ZANG, M.; HAO, L. Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by a polysaccharide from the roots of *Dipsacusasperoides*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.56, p.14-19, 2013

DIAS, A. T.; RODRIGUES, B.P.; PORTO, M.L.; GAVA, A.L.; BALARINI, C. M.; FREITAS, F. P. S.; PALOMINO, Z.; CASARINI, D. E.; CAMPAGNARO, B. P.; PEREIRA, T. M. C.; MEYRELLES, S. S.; VASQUEZ, E. C. Sildenafil ameliorates oxidative stress and DNA damage in the stenotic kidneys in mice with renovascular hypertension. *Journal of Translational Medicine*, v.12, p.35, 2014

DOLKART, O.; KHOURY, W.; AMAR, E.; WEINBROUM, A. A. Pneumoperitoneum in the presence of acute and chronic kidney injury: an experimental model in rats. *Journal of Urology*, v.192(4), p.1266-1271, 2014

EBRAHIMI, F.; SHAFAROODI, H.; ASADI, S.; NEZAMI, B. G.; GHASEMI, M.; RAHIMPOUR, S.; HASHEMI, M.; DOOSTAR, Y.; DEHPOUR, A. R. Sildenafil decreased cardiac cell apoptosis in diabetic mice: reduction of oxidative stress as a possible mechanism. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, v.87(7), p.556-564, 2009

ELAHI, M. M.; KONG, Y. X.; MATAT, B. M. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v.2, p.259-269, 2009

EWING, J. F.; JANERO, D. R. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide degenerator. *Analytical Biochemistry*, v.232, p.243-248, 1995

FAHY, B. G.; HASNAIN, J. U.; FLOWERS, J. L.; PLOTKIN, J. S.; ODonkor, P.; FERGUSON, M. K. Transesophageal echocardiographic detection of gas embolism and cardiac valvular dysfunction during laparoscopic nephrectomy. *Anesthesia and Analgesia Journal*, v.88, p.500-504, 1999

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.43, p.61-68, 1997

GALVÃO, A. L. B. Estresse oxidativo nos estágios finais da doença renal crônica em pequenos animais. *Archives of Veterinary Science*, v.14, p.178-186, 2009

GIBSON, A. Phosphodiesterase 5 inhibitors and nitrogenic transmission from zaprinast to sildenafil. *European Journal of Pharmacology*, v.411(1-2), p.1-10, 2011

GIORDANO, D.; DE STEFANO, M. E.; CITRO, G.; MODICA, A.; GIORGI, M. Expression of cGMP-binding cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5) in mouse tissues and cell lines using an antibody against the enzyme amino-terminal domain. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1539 (1-2), p.16-27, 2001

GOLIGORSKY, M. S.; BRODSKY, S. V.; NOIRI, E. Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney International*, v.61, p.855-861, 2002

GUPTA, A.; WATSON, D. I. Effect of laparoscopy on immune function. *British Journal of Surgery*, v.88(10), p.1296-1306, 2001

GUTT, C. N.; HOLLANDER, D.; BRIER, C. H.; KIM, Z. G.; LORENZ, M. Influence of laparoscopy and laparotomy on systemic and peritoneal T lymphocytes in a rat model. *International Journal of Colorectal Disease*, v.16(4), p.216-220, 2001

HANLY, E. J.; MENDOZA-SAGAON, M.; MURATA, K.; HARDACRE, J.; TALAMINI, M. A. CO₂ pneumoperitoneum modifies the inflammatory response to sepsis. *Annals of Surgery*, v.237(3), p.343-350, 2003

HAZEBROEK, E. J.; DE BRUIN, R. W.; BOUVY, N. D.; MARQUET, R. L.; BONTHUIS, F.; BAJEMA, I. M.; HAYES, D. P.; IJZERMANS, J. N.; BONJER, H. J. Longterm impact of pneumoperitoneum used for laparoscopic donor nephrectomy on renal function and histomorphology in donor and recipient rats. *Annals of Surgery*, v.237, p.351-357, 2003

HYPOLITO, O.; AZEVEDO, J. L.; GAMA, F.; MIYAHIRA, S. A.; PIRES, O. C.; CALDEIRA, F. A.; SILVA, T. Effects of elevated artificial pneumoperitoneum pressure on invasive blood pressure and levels of blood gases. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v.64(2),p.98-104, 2014

JIANG, Z. Y.; WOOLARD, A. C. S.; WOLF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the present of xylenol orange. *Lipids*, v24, p.861-869, 1991

KOUPPARIS, A. J.; JEREMY, J. Y.; MUZAFFAR, S.; PRESAD, R.; SHUKLA, N. Sildenafil inhibits the formation of superoxide and the expression of gp47 NAD(P)H oxidase induced by the thromboxane A2 mimetic, U46619, in corpus cavernosal smooth muscle cells. *BJU International*, v.96(3), p.423-427, 2005

KHOURY, W.; SCHREIBER, L.; SZOLD, A.; KLAUSNER, J. M.; WIENBROUM, A. A. Renal oxidative stress following CO2 pneumoperitoneum-like conditions. *Surgical Endoscopy*, 23(4), p.776-782, 2009

KUKREJA, R. C.; SALLOUM, F.; DAS, A.; OCKAILI, R.; YIN, C.; BREMER, Y. A.; FISHER, P. W.; WITTKAMP, M.; HAWKINS, J.; CHOU, E.; KUKREJA, A. K.; WANG, X.; MARWAHA, V. R.; XI, L. Pharmacological preconditioning with sildenafil: basic mechanisms and clinical implications. *Vascular Pharmacology*, v.42, p.219-232, 2005

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Cellular adaptations, cell injury, and cell death. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds) *Robbins and Cotran Pathologic basis of diseases*, 7th edn. Elsevier Saunders, St Louis, p.1-47, 2005

KÜÇÜK, A.; YUCEL, M.; ERKASAP, N.; TOSUN, M.; KOKEN, T.; OZKURT, M.; ERKASAP, S. The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Molecular Biology Reports*, v.39(10), p.9775-9782, 2012

LAI, H.; MO, X.; YANG, Y.; XIAO, J.; HE, K.; CHEN, J.; LIN, Y. Association between duration of carbon dioxide pneumoperitoneum during laparoscopic abdominal surgery and hepatic injury: a meta-analysis. *PLOS One*, v.11(8), p.e104067, 2014

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas*, v.37, p.293-303, 2001

LLEDO-GARCIA, E.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, D.; CABELLO-BENAVENTE, R.; MONCADA-IRIBARREN, I.; TEJEDOR-JORGE, A.; DULIN, E.; HERNANDEZ-FERNANDEZ, C.; DEL CANIZO-LOPEZ, J. F. Sildenafil improves immediate posttransplant parameters in warm-ischemic kidney transplants. Experimental study. *Transplantation Proceedings*, v.39, p.1354-1356, 2007

LLEDO-GARCIA, E.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, D.; CABELLO-BENAVENTE, R.; DULIN, E.; GARCIA BORDAS, J.; FERNANDEZ ALVAREZ, E.; HERNANDEZ-FERNANDEZ, C.; DEL CANIZO LOPEZ, J. F. Precondicionamiento farmacológico con sildenafil de riñon con isquemia normotérmica. *Actas Urológicas Españolas*, v.32, p.67-74, 2008

LLEDO-GARCIA, E.; SUBIRA-RIOS, D.; OGAYA-PINIES, G.; TEJEDOR-JORGE, A.; CANIZO-LOPEZ, J. F.; HERNANDEZ-FERNANDEZ, C. Intravenous sildenafil as a preconditioning drug against hemodynamic consequences of warm ischemia-reperfusion on the kidney. *Journal of Urology*, v.186(1), p.331-333, 2011

MEDEIROS, P. J.; VILLARIM NETO, A.; LIMA, F. P.; AZEVEDO, I. M.; LEÃO, L. R.; MEDEIROS, A. C. Effect of sildenafil in renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.25(6), p.490-495, 2010

MEYER, F.; SILVA, D. S.; BOMBONATTO, G. M.; LIZANA, J. N.; DZIEDRICKI, L. F.; KRIEGER, M. L. Histological analysis and the blood flux in kidneys submitted to different periods of ischemia/reperfusion. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.26, p.451-455, 2011

MITCHELL, T.; SABA, H.; LAAKMAN, J.; PARAJULI, N.; MACMILLAN-CROW, L. A. Role of mitochondrial-derived oxidants in renal tubular cell cold-storage injury. *Free Radical Biology & Medicine*, v.49, p.1273-1282, 2010

MOHEY, V.; SINGH, M.; PURI, N.; KAUR, T.; PATHAK, D.; SINGH, A. P. Sildenafil obviates ischemia-reperfusion injur-induced acute kidney injury through peroxisome proliferator-activated receptor γ agonism in rats. *Journal of Surgical Research*, v.201(1), p.69-75, 2016

MORALES, A.; GINGELL, C.; COLLINS, M.; WICKER, P. A.; OSTERLOH, I. H. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA) in the treatment of erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, v.10, p.69-73, 1998

MORCOS, K. S. Can selective inhibitors of cyclic guanosine monophosphate (cGMP)-specific phosphodiesterase type 5 (PDE 5) offer protection against contrast induced nephropathy? *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, v.4(4), p.214-215, 2014

NIKI, E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochimica et Biophysica Acta* Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.03.020>, 2013

OCKAILI, R.; SALLOUM, F.; HAWKINS, J.; KUKREJA, R. C. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening mitochondrial K (ATP) channels in rabbits. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, v.283, p.1263-69, 2002

ORUC, O.; INCI, K.; AKI, F. T.; ZEYBEK, D.; MUFTUOGLU, S. F.; KILINC, K. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte infiltration. *Acta Histochemica*, v.112, p.337-344, 2010

ÖZTÜRK, H.; ALDEMIR, M.; BÜYÜKBAYRAM, H.; DOKUCU, A.; OTCU, S. The effects of the nitric oxide donor molsidomine prevent in warm ischemia-reperfusion injury of the rat renal – A functional and histopathological study. *International Urology and Nephrology*, v.32, p.601-607, 2001

ÖZTÜRK, S. A.; CEYLAN, C.; SEREL, T. A.; DOLUOGLU, O. G.; SOYUPEK, A. S.; GUZEL, A.; ÖZORAK, A.; UZ, E.; SAVAS, H. B.; BASPINAR, S. Protective effect of theophylline on renal functions in experimental pneumoperitoneum model. *Renal Failure*, v.37(6), p.1044-1049, 2015

PAGLIUSO, R. G.; GOLONI-BERTOLLO, E. M.; ABBUD FILHO, M.; PAVARINO-BERTELLI, E. C. Estresse oxidativo e disfunção crônica do enxerto renal. *Arquivos de Ciências da Saúde*, v.13, p.223-227, 2006

PARKINSON, T. J. Progress towards less invasive veterinary surgery. *Veterinary Record*, v.171, p.67-68, 2012

PEREIRA, B. L. B.; ARRUDA, F. C. O.; REIS, P. P.; FELIX, T. F.; SANTOS, P. P.; RAFACHO, B. P.; GONÇALVES, A. F.; CLARO, R. T.; AZEVEDO, P. S.; POLEGATO, B. F.; OKOSHI, K.; FERNANDES, A. A. H.; PAIVA, S. A. R.; ZORNOFF, L. A. M.; MINICUCCI, M. F. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) supplementation induces changes in cardiac miRNA expression, reduces oxidative stress and left ventricular mass, and improves diastolic function. *Nutrients*, v.7, p.9640-9649; doi 10.3390/nu7115493, 2015

REFFELMANN, T.; KLONER, R. A. Phosphodiesterase 5 inhibitors: are they cardioprotective. *Cardiovascular Research*, v.83, p.204-212, 2009

RIFATIOGLU, M. M.; DAVARCI, M.; NACAR, A.; ALP, H.; CELIK, M.; SEFIL, N. K. In Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects against acute urogenital injury following pneumoperitoneum in the rat. *Renal Failure*, v.36(1), p.98-103, 2013

RODRIGUES, B. P.; CAMPAGNARO, B. P.; BALARINI, C.M.; PEREIRA, T. M.; MEYRELLES, S. S.; VASQUEZ, E. C. Sildenafil ameliorates biomarkers of genotoxicity in an experimental model of spontaneous atherosclerosis. *Lipids in Health and Disease*, v.12(1), p.128, 2013

ROMEO, C.; IMPELLIZZERI, P.; ANTONUCCIO, P.; TURIACO, N.; CIFALA, S.; GENTILE, C.; PASSANITI, M.; MARINI, H.; SQUADRITO, F.; ALTAVILLA, D. Peritoneal macrophage activity after laparoscopy or laparotomy. *Journal of Pediatric Surgery*, v.38(1), p.97-101, 2003

ROSANO, G. M.; AVERSA, A.; VITALE, C.; FABBRI, A.; FINI, M.; SPERA, G. Chronic treatment with Tadalafil improves endothelial function in men with increased cardiovascular risk. *European Urology*, v.47, p.214-222, 2005

SABA, H.; MUNUSAMY, S.; MACMILLAN-CROW, L. A. Cold preservation mediated renal injury: involvement of mitochondrial oxidative stress. *Renal Failure*, v.30, p.125-133, 2008

SAMMOUR, T.; MITTAL, A.; LOVEDAY, B. P. T.; KAHOKHEHR, A.; PHILIPS, A. R. J.; WINSOR, J. A.; HILL, A. G. Systematic review of oxidative stress associated with pneumoperitoneum. *British Journal of Surgery*, v.96, p.836-850, 2009

SANTOS, F. B.; KOFF, W. J.; GREZZANA FILHO, T. J. M.; DE ROSSI, S. D.; TREIS, L.; BONA, S. R.; PÊGAS, K. L.; KATZ, B.; MEYER, F. S.; MARRONI, N. A. P.; CORSO, C. O. Oxidative stress evaluation of ischemia and reperfusion in kidneys under various degrees of hypothermia in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.28, p.568-573, 2013

SANDNER, P.; HÜTTER, J.; TINEL, H.; ZIEGELBAUER, K.; BISCHOFF, E. PDE5 inhibitors beyond erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, v.19, p.533-543, 2007

SCHÄFER, M.; KRÄHENBÜHL, L. Effects of laparoscopy on intra-abdominal blood flow. *Surgery*, v.129, p.385, 2001

SCHACHTRUPP, A.; TOENS, C. H.; HOER, J.; KLOSTERHALFEN, B.; LAWONG, A. G.; SCHUMPELICK, V. A 24h penumoperitoneum leads to multiple organ impairment in a porcine model. *Journal of Surgical Research*, v.106, p.37-45, 2002

SEFR, R.; PUSZAILER, K.; JAGOS, F. Randomized trial of different intraabdominal pressure and acid-base balance alterations during laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy*, v.17, p.947-950, 2003

SEGURO, A. C.; FIGUEIREDO, L. F. P. M.; SHIMIZU, M. H. M. N-acetylcysteine (NAC) protects against a ute kidney injury (AKI) following prolonged pneumoperitoneum in the rat. *Journal of Surgical Research*, v.175(2), p.312-315, 2012

SESTI, C.; FLORIO, V.; JOHNSON, E. G.; KLONER, R. A. The phosphodiesterase-5 inhibitor Tadalafil reduces myocardial infarct size. *International Journal of Impotence Research*, v.19, p.55-61, 2007

SHARFUDDIN, A. A.; MOLITORIS, B. A. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, v.7, p.189-200, 2011

SMITH, S. E. e SANE, A. A. Measurement of intra-abdominal pressure in dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v.22(5), p.530–544, 2012

SODHA, S.; NAZARIAN, S.; ADSHEAD, J. M.; MOHAN-S, G. Effect of pneumoperitoneum on renal function and physiology in patients undergoing robotic renal surgery. *Current Urology*, v.9, p.1-4, 2015

SOUZA, D. B.; COSTA, W. S.; CARDOSO, L. E.; BENCHIMOL, M.; PEREIRA-SAMPAIO, M. A.; SAMPAIO, F. J. Does prolonged pneumoperitoneum affect the kidney? Oxidative stress, stereological and electron microscopy study in a rat model. *International Brazilian Journal of Urology*, v.39(1), p.30-36, 2013

THOMAS, M. K.; FRANCIS, S. H.; CORBIN, J. D. Characterization of a purified bovine lung cGMP-binding cGMP phosphodiesterase. *Journal of Biological Chemistry*, v.265(25), p.14964-14970, 1999

ÜCKERT, S.; KUCZYK, M. A.; OELKE, M. Phosphodiesterase inhibition in clinical urology. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, v.6(3), p.323-332, 2013

WIESENTHAL, J. D.; FAZIO, L. M.; PERKS, A. E.; BLEW, B. D.; MAZER, D.; HARE, G.; HONEY, R. J.; PACE, K. T. Effect of pneumoperitoneum on renal tissue oxygenation and blood flow in a rat model. *Urology*, v.77(6), p.1508-1515, 2011

YIANNAKOPOULOU, E.; NIKITEAS, N.; PERREA, D.; TSIGRIS, C. Minimally Invasive Surgery and Oxidative Stress Response: What Have We Learned From Animal Studies? *Surgical Laparoscopy Endoscopy & Percutaneous Techniques*, v.23(1), 2013

YURDAKUL, T.; KULAKSIZOGLU, H.; PISKIN, M. M.; AVUNDUK, M. C.; ERTEMLI, E.; BARISKANER, H.; BÜYÜKBAS, S.; KOCABAS, V. Combination antioxidant effect of α -tocoferol and erdosteine in ischemia-reperfusion injury in rat model. *International Urology and Nephrology*, v.42, p.647-655, 2010

ZHAN, C.; SINDHU, R. K.; PANG, J.; EHDAIE, A.; VAZIRI, N. D. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the spontaneously hypertensive rat kidney: effect of antioxidant-rich diet. *Journal of Hypertension*, v.22, p.2025-2033, 2004