

## INFLUÊNCIA DO PNEUMOPERITÔNIO NAS FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL E NA LIBERAÇÃO DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE ENDOTOXEMIA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO DE *ESCHERICHIA COLI*

### *Influence of pneumoperitoneum on the hepatic and renal functions and the release of pro-inflammatory cytokines in the endotoxemia model induced by lipopolysaccharide from Escherichia coli*

Matheus Martin MACRI, Jorge Eduardo Fouto MATIAS, Carlos José Franco de SOUZA, João Eduardo Leal NICOLUZZI, Pedro Ernesto CARON, João Carlos Domingues REPKA

ABCDDV/674

Macri MM, Matias JEF, Souza CJF, Nicoluzzi JEL, Caron PE, Repka JCD. Influência do pneumoperitônio nas funções hepática e renal e na liberação de citocinas pró-inflamatórias em modelo experimental de endotoxemia induzida por lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. ABCD Arq Bras Cir Dig 2009;22(4):

**RESUMO** – **Racional** - A videocirurgia pode apresentar complicações inerentes ao método e dentre elas destacam-se as relacionadas ao aumento da pressão na cavidade intra-abdominal. **Objetivo** - Analisar os efeitos do pneumoperitônio em modelo experimental de endotoxemia causada por lipopolissacarídeo. **Método** - Foram utilizados 32 ratos Wistar dos quais foi coletado sangue 24 horas prévias para obtenção dos valores de referência nas provas de função renal, hepática e do estado endotóxico (contagens total e diferencial de leucócitos, contagem de plaquetas e dosagens de lipopolissacarídeo, TNF $\alpha$ , IL6). A seguir os ratos foram separados em quatro grupos com oito: grupos controle inoculados com lipopolissacarídeo (10 mg/kg via intraperitoneal) e mantidos por quatro e 11 horas (C-LPS4 e C-LPS11). Grupo C-PP, submetido ao pneumoperitônio por CO $_2$  por uma hora e mantido sob observação por seis horas. Grupo experimento (E) inoculados com 10 mg/kg de lipopolissacarídeo por via intraperitoneal, após quatro horas submetidos ao pneumoperitônio por CO $_2$  por uma hora e mantidos sob observação por seis horas. Ao término destes períodos foram coletadas amostras de sangue para as mesmas avaliações iniciais. Utilizou-se o método de T-Student para as comparações dos resultados, com nível de significância de 0,05. **Resultados** - Em comparação aos valores iniciais e aos grupos controle, o grupo E apresentou maiores valores nas dosagens de creatinina e uréia, bilirrubina direta, ALT e TAP, aumento nas dosagens de IL6, TNF $\alpha$  e diminuição de plaquetas, aumento de leucócitos e bastonetes e detecção de endotoxina circulante. **Conclusão** - O pneumoperitônio por dióxido de carbono induz aumentos na liberação de TNF $\alpha$ , IL6, piora das funções hepática e renal em modelo experimental de endotoxemia induzida por lipopolissacarídeo.

**DESCRITORES** - Ratos. Pneumoperitônio. Dióxido de carbono. Sepsis. Lipopolissacarídeo. Fator de necrose tumoral Alfa. Interleucina 6.

### INTRODUÇÃO

Atualmente a videocirurgia é amplamente empregada como ferramenta diagnóstica ou como método de acesso cirúrgico<sup>21</sup> e mais recentemente tem sido utilizada no diagnóstico e estadiamento das neoplasias abdominais e torácicas, por permitir recuperação mais rápida e o início de tratamento complementar mais precoce<sup>13</sup>.

Apesar dos inegáveis benefícios desta técnica, não tornam suas aplicações ilimitadas e eventuais evoluções insatisfatórias tem motivado estudos experimentais para a investigação dos fenômenos fisiopatológicos relacionados.

A videocirurgia pode apresentar complicações inerentes ao método e dentre elas destacam-se as relacionadas ao aumento da pressão na cavidade intra-abdominal - o pneumoperitônio -, como a ocorrência de enfisema parietal, injeção

de gás no omento, no interior de um órgão abdominal ou grande vaso, complicações respiratórias devido à elevação da cúpula diafragmática, hipofluxo esplâncnico levando à hipoperfusão de órgãos abdominais e intestinos com alterações dos componentes da barreira intestinal, alterações circulatórias causadas pela compressão da veia cava inferior e como efeito cascata, verifica-se redução do débito cardíaco, bradicardia e possível parada cardíaca<sup>25</sup>. Considerava-se como contra-indicação absoluta da colecistectomia laparoscópica situações como gravidez, operação abdominal prévia, intolerância ao aumento da pressão intra-abdominal, obstrução intestinal, coagulopatia, obesidade, cirrose, intolerância à anestesia geral, coledocolitíase e colecistite aguda. Atualmente, a maior experiência do cirurgião com o método e melhores conhecimentos e controle das repercussões do pneumoperitônio pelo anestesista, ampliaram as indicações dos procedimentos laparoscópicos e restringiram suas contra-indicações e vem sendo utilizada na definição diagnóstica, mesmo em pacientes críticos com quadro séptico<sup>21</sup>.

Com o advento da antibioticoterapia, desde a metade

Trabalho realizado no Hospital Angelina Caron, Campina Grande do Sul, PR, Brasil

Endereço para correspondência: Matheus Martin Macri, e-mail: matheusmacri@hotmail.com

do século passado os índices de morbi-mortalidade associados às infecções reduziram-se significativamente, contudo, permanecem desafiantes os quadros infecciosos seguidos de sepse. Nos Estados Unidos<sup>2</sup> estimaram a incidência anual de 751.000 casos (3 casos/1.000 população) e evolução para óbito em 215.000 casos (28,6 %). No Brasil, por não ser uma doença de notificação compulsória não se conhece a real incidência da sepse na população em geral, mas evidencia-se o elevado impacto econômico e social que ela acarreta por ser uma das mais elevadas taxas de incidência do mundo - 57 por 1.000 pacientes/dia -, e com quadros mais graves e internação mais prolongada que em outros países. A sepse é relacionada diretamente à liberação de endotoxina bacteriana que também é conhecida como lipopolissacarídeo (LPS)<sup>27</sup>. Trata-se de um componente da parede celular de bactérias Gram-negativas e que, “per se”, é capaz de desencadear mecanismos indutores reações inflamatórias graves, os quais se sobrepõem aos sintomas da infecção sistêmica pré-existente. A definição de sepse, de acordo com o Consenso Brasileiro de Sepse<sup>7</sup> é uma “resposta inflamatória sistêmica exagerada, secundária à infecção grave documentada”.

O LPS é responsável pela ativação de mediadores endógenos secretados por células inflamatórias ativadas, identificados como citocinas, e entre estas destacam-se o fator de necrose tumoral alfa e a interleucina (TFN $\alpha$  e IL6)<sup>1</sup>. Estas citocinas são as responsáveis pela eclosão de diversas alterações clínicas na sepse como a febre ou hipotermia, as alterações funcionais como oligúria, taquipnéia, hipoxemia, taquicardia, hipotensão, acidose láctica e coagulopatia entre outros. Não é infrequente em nosso meio a utilização da videolaparoscopia em pacientes sépticos, seja para a resolução do foco infeccioso ou para avaliação diagnóstica<sup>21</sup>, e desconhece-se ainda, os efeitos da associação do pneumoperitônio em condições de resposta inflamatória sistêmica secundária à endotoxemia.

Este estudo tem por objetivo analisar os efeitos do pneumoperitônio (PP) em modelo experimental de endotoxemia causada por lipopolissacarídeo (LPS).

## MÉTODOS

### Descrição da amostra e organização dos grupos de estudo

Nesta pesquisa foram adotadas as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)<sup>23</sup> e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal conforme protocolo 36/2007 de 23 de setembro de 2007.

Foram utilizados 32 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, Rodentia, mammalia), com idade de 134  $\pm$  11 dias, peso médio de 265,34  $\pm$  23,73 g provenientes do biotério central da Universidade Federal do Paraná e mantidos grupos de quatro em cada caixa de prolipropileno com maravalha trocados diariamente. Os animais foram mantidos em ciclos de iluminação automaticamente regulados a cada 12 horas por todo o período da experimentação em temperatura ambiente mantida entre 18 e 27° C, a umidade relativa do ar entre 40 e 70 % com foi livre o acesso à água e à ração balanceada própria para a espécie composta de 4

% de lipídios, 21 % de proteínas, 52 % de carboidratos e o restante de resíduos não digeríveis (Nuvilab, Nuvital®). Foram separados em dois grupos, o grupo experimento (E) foi submetido à inoculação de LPS e mantidos por quatro horas, seguido de indução do pneumoperitônio por uma hora e posteriormente mantidos por seis horas até a coleta de amostras. O grupo controle continha os seguintes sub-grupos: inoculação de LPS e manutenção por quatro horas e coleta de amostras (C-LPS4), indução de pneumoperitônio e coleta de amostras (C-PP) e ainda inoculação de LPS e manutenção por onze horas e coleta de amostras (C-LPS11).

### Indução de pneumoperitônio

Conforme metodologia anteriormente descrita<sup>14</sup>, com os ratos em jejum de 24 horas prévias ao experimento, foram executadas a pesagem e a anestesia pela administração de 100 mg/kg Cetamina (Cristalia®) associada a 10 mg/kg Xilasina (Dopaser, Calier®) por via intramuscular (panturrilha)<sup>3</sup>. Foram colocados em decúbito dorsal e realizada anti-sepsia abdominal com álcool iodado e em seguida foram puncionados na região mediana infra-umbilical do abdômen, com agulha 40X12 mm. A agulha foi conectada através de tubo de silicone esterilizado ao dispositivo distribuidor de CO<sup>2</sup> e este, ao insuflador eletrônico (Endoview®). O aparelho de insuflação foi regulado a 100 mL/minuto de CO<sup>2</sup>, por uma hora. Os ratos foram mantidos em temperatura ambiente regulada entre 19 a 22°C e respiração espontânea (Figura 1).



FIGURA 1- Indução de pneumoperitônio em 13 ratos simultaneamente

Ao término o insuflador era desligado e provocada a desinsuflação abdominal dos ratos por leve compressão manual e durante este período foram monitorizadas a ocorrência de sinais de hipotermia, indicada por pilo-ereção e tremores, bem como de baixa perfusão de oxigênio indicada pela cor da pele das orelhas e patas<sup>3</sup>.

### Indução de endotoxemia pelo LPS

#### Preparação do inóculo de LPS

A solução de LPS foi preparada imediatamente antes de sua inoculação. Pesou-se 5 mg de LPS em frascos de vidro esterilizado e apirogênico e solubilizou-se em 10 mL de solução fisiológica, imediatamente antes de sua inocu-

lação nos ratos<sup>10,19</sup>. Foram inoculadas as doses de 10 mg/kg de peso por via intraperitoneal sob sedação por inalação de Isoflurano (Forane® Abbott) em circuito fechado. Os mesmos procedimentos foram feitos nos ratos do sub-grupo controle do pneumoperitônio, sendo inoculado solução fisiológica em volume proporcional ao peso.

### Aferições

#### *Coleta de sangue*

Ao término do experimento em cada sub-grupo, os ratos eram anestesiados em campânula fechada sob saturação de isoflurano (Forane® Abbott) e após a degermação da pele da região torácica com álcool iodado era puncionado o tórax e coletava-se sangue até o volume mínimo de 10 mL, suficiente para a indução de parada cardíaco-respiratória. Imediatamente o sangue era separado em alíquotas mínimas de 2 mL em quatro diferentes tubos de ensaio para as avaliações.

#### *Dosagem do TNF $\alpha$ , IL6 e LPS*

Para a dosagem de TNF $\alpha$  utilizou-se o método imunoenzimático (Elisa) com os reativos Biotra – Tumor Necrosis Factor Elisa System (Amersham Pharmacia code RPN 2718®)<sup>29</sup>. Para a IL6 utilizou-se o método imunoenzimático (Elisa) com os reativos Abazyme Human IL6 Elisa Kit® EL-10023)<sup>4</sup>. Para a dosagem de endotoxinas, foi empregado o método do Lymulus Amebocyte Lisate (Endosafe® 1073)<sup>6</sup>.

#### *Avaliações bioquímicas e hematológicas*

Para as dosagens bioquímicas empregou-se método automatizado com reativos específicos e padrões para cada teste Selectra II (Vitalab®) e para as avaliações hematológicas o método automatizado Seldin 3000®. As contagens de bastonetes foram feitas pelo método microscópico porcentual, em distensões hematológicas de cada amostra coradas pelo método de May-Grunwald Giemsa. A avaliação do tempo de ação da protrombina foi feita pelo método automatizado com reativos específicos Stago Baye®.

### Análise estatística

Os resultados foram comparados mediante a análise estatística pelo método de T de Student e adotado 0,05 como nível de rejeição da hipótese nula através do programa Graphpad software entre as médias e desvios-padrões de referência em comparação aos grupos, bem como entre estes.

## RESULTADOS

Não ocorreram mortes entre os animais submetidos ao pneumoperitônio ou às inoculações de LPS.

### Avaliação da função renal

As dosagens de creatinina foram analisadas por comparação dos valores de referência às médias dos grupos. Observou-se que o grupo E apresentou maiores valores ( $0,85 \pm 0,24$  mg/dL), diferindo significativamente dos grupos referência ( $0,63 \pm 0,13$  mg/dL) com  $P=0,0013$  e do grupo C-PP ( $0,57 \pm 0,1$  mg/dL) com  $P=0,0114$ . As dosagens de uréia dos grupos E, C-LPS4, C-LPS11 e C-PP foram significativamente maiores que as médias de referência. O grupo E apresentou maiores valores ( $106,38 \pm 37,61$  mg/dL), diferindo significativamente dos valores de referência ( $36,41 \pm 7,17$  mg/dL) com  $P<0,0000$ , e dos grupos C-PP ( $43,75 \pm 11,44$  mg/dL) com  $P=0,0158$ , C-LPS4 ( $65,25 \pm 19,51$  mg/dL) com  $P=0,0158$  e não diferiu do grupo C-LPS11 ( $111,88 \pm 62,28$  mg/dL) com  $P=0,8338$ .

### Avaliação da função hepática

#### *Dosagens de bilirrubinas, aminotransferases e do tempo de ativação da protrombina*

Quanto às dosagens de bilirrubina direta observou-se que o grupo E apresentou maiores valores ( $0,34 \pm 0,09$  mg/dL), diferiu significativamente do grupo C-LPS4 ( $0,21 \pm 0,06$  mg/dL) com  $P=0,0039$ , e não diferiu dos demais grupos. Nas dosagens de bilirrubina total o grupo E ( $0,48 \pm 0,16$  mg/dL) não diferiu significativamente dos demais grupos. As dosagens de ALT dos grupos E, C-LPS4, C-LPS11 e C-PP foram significativamente maiores que os valores de referência. O grupo E apresentou maiores valores ( $390,38 \pm 351,88$  mg/dL), diferindo significativamente do C-LPS4 ( $123,38 \pm 57,37$  mg/dL) com  $P=0,0022$  e dos valores de referência ( $48,34 \pm 15,48$  mg/dL) com  $P<0,0000$ . As dosagens de AST dos grupos E, C-LPS4, C-LPS11 e C-PP foram significativamente maiores que as médias de referência e as médias do TAP do grupo E foram significativamente maiores que dos demais grupos e dos valores de referência, bem como a média do grupo C-LPS11 ( $17,01 \pm 2,18$  U/L) foi significante maior que os valores de referência ( $14,18 \pm 3,49$  U/L) com  $P=0,0355$ .

#### **Dosagens de IL6e do TNF $\alpha$**

A média das dosagens de IL6 do grupo E ( $36,0 \pm 11,23$  pg/mL) foi significativamente maior que os demais grupos (C-LPS11=  $7,83 \pm 3,88$  pg/mL, C-LPS4=  $12,58 \pm 2,47$  pg/mL, C-PP=  $4,89 \pm 4,26$  pg/mL e referência  $4,7 \pm 4,12$  pg/mL). O grupo C-LPS4 ( $12,58 \pm 2,47$  pg/mL) demonstrou valores significativamente maiores que os demais grupos e os valores de referência, exceto o grupo E.

A média das dosagens de TNF $\alpha$  do grupo E ( $518,36 \pm 203,39$  pg/mL) foi significativamente maior que os demais grupos e também que os valores de referência e os demais grupos C-LPS4 ( $12,58 \pm 2,47$  pg/mL), C-LPS11 ( $42,49 \pm 14,57$  pg/mL), C-PP também demonstraram valores significativamente maiores que os valores de referência.

## Avaliações hematológicas

Observaram-se diminuições significativas nas contagens de plaquetas nos grupos E ( $P < 0,0000$ ), C-LPS11 ( $P < 0,0000$ ), e C-LPS4 ( $P < 0,0412$ ), em relação aos valores de referência. Observou-se aumento significativo na contagem de leucócitos no grupo E quando comparado aos demais grupos e aos valores de referência. Ocorreu aumento significativo na contagem de bastonetes nos grupos E e C-LPS11 aos valores de referência (0 a 10 %).

## Dosagem de LPS - Unidades Endotóxicas/mL

Não houve detecção de endotoxina no grupo C-PP e nas amostras de referência. O grupo E apresentou média significativamente maior de endotoxina circulante ( $0,21 \pm 0,08$  UE/mL) quando comparada à do grupo C-LPS4 ( $0,11 \pm 0,06$  UE/mL) com  $P = 0,0124$  e à do grupo C-LPS11 ( $0,13 \pm 0,05$  UE/mL) com  $P = 0,0230$ . Entre os grupos C-LPS4 e C-LPS11 não houve diferença significativa ( $P = 0,6186$ ). A média das dosagens de TNF $\alpha$  do grupo E ( $518,36 \pm 203,39$  pg/mL) foi significativamente maior que os demais grupos e também que os valores de referência. Os demais grupos C-LPS4 ( $12,58 \pm 2,47$  pg/mL), C-LPS11 ( $42,49 \pm 14,57$  pg/mL), C-PP demonstraram valores significativamente maiores que os valores de referência.

## DISCUSSÃO

A insuflação de dióxido de carbono sob pressão na cavidade peritoneal pode levar a graves alterações na microcirculação esplâncica, podendo influir na fisiologia pulmonar, cardíaca, hepática e renal. Tradicionalmente os animais de médio porte como cães e porcos são utilizados em experimentos envolvidos com operação laparoscópica, devido a seu porte e a possibilidade de emprego dos mesmos instrumentos utilizados em humanos<sup>5,12</sup>, porém a utilização do rato como opção na experimentação em videocirurgia tem sido crescente nos últimos anos.

O presente estudo foi executado com os ratos sob anestesia induzida pela associação de ketamina e xilaxina, que têm sido apontadas como vantajosas em relação à outras drogas anestésicas por contribuírem para melhor saturação periférica de oxigênio, estabilidade na frequência cardíaca e manutenção da temperatura corpórea<sup>3,11</sup> - o que deve justificar a não ocorrência de mortes durante o presente estudo mesmo sem intubação intratraqueal. Conforme anteriormente descrito, para a indução do pneumoperitônio escolheu-se a pressão de 10 mmHg<sup>14</sup>, por uma hora de duração com dióxido de carbono. Nestas condições experimentais não foram observadas alterações da função renal no grupo controle (C-PP) submetido somente ao pneumoperitônio Santos et al.<sup>26</sup> em 2005. Quanto às dosagens de creatinina, os resultados estão de acordo com a literatura. Contudo, com referência à dosagem de uréia houve aumento significativo neste grupo com  $P = 0,0000$ , em relação aos valores de referência. Quando foram avaliados estes resultados de uréia e creatinina nos ratos sob pneumoperitônio e em

vigência de endotoxemia, observou-se aumento significativo nestas dosagens quando comparados aos grupos controle C-PP sendo dosagens de uréia  $P = 0,0000$ , e de creatinina  $P = 0,0013$ , o que demonstra a influência da endotoxemia na disfunção renal quando sob pressão intra-abdominal de 10 mmHg por uma hora.

Estes resultados também concordam com Santos et al.<sup>26</sup> em 2005, que descreveram o decréscimo na velocidade de fluxo na veia renal com consequente oligúria e também de outros autores<sup>20</sup>, que definiram o efeito do pneumoperitônio na pressão intra-abdominal de 4 mmHg em ratos, através de alterações significantes uréia, pH e pO<sub>2</sub>. Estes achados podem ser explicados pela associação hipoperfusão tecidual causada tanto pela endotoxemia<sup>27</sup> como pelo pneumoperitônio<sup>8,9,15,17,18</sup> e também pela lesão inflamatória induzida pela endotoxina. Esta associação induz dano isquêmico e disfunção tubular renal. Ocorre ainda oligúria progressiva com queda da taxa de filtração glomerular e elevação da creatinina. Foi descrito que na sepse, a instalação do quadro de insuficiência renal incrementa a morbimortalidade, apesar da terapia renal substitutiva precoce<sup>24</sup>, sendo que a insuficiência renal aguda, associada à sepse, determina prognóstico muito reservado, com taxas de mortalidade de até 80 %. Quanto à função hepática, demonstrou-se em humanos que as alterações ocorrem tardiamente, no curso da sepse. A colestase é a manifestação mais comum, caracterizando-se pela elevação das bilirrubinas, predominantemente direta, sem obstrução biliar e sem grandes aumentos nas transaminases. As hipóteses para explicar tal condição são alicerçadas nas evidências de diminuição do fluxo sanguíneo hepático, congestão venosa e lesão inflamatória dos hepatócitos, acarretando alteração funcional nos mesmos. A eclosão de icterícia é sinal de pior prognóstico na sepse. Só mais tardiamente aparecem os quadros de insuficiência hepática e encefalopatia. O principal órgão que responde à endotoxemia é o fígado, sendo que ele pode entrar em falência funcional em decorrência do choque induzido por LPS, mesmo com intervenção terapêutica. No presente estudo com a inoculação de 10 mg/kg de LPS ocorreram alterações hepáticas significantes, observadas pelas elevações das bilirrubinas direta e total e das transaminases, destacando-se a associação ao pneumoperitônio. Estudos do pneumoperitônio em animais demonstraram redução do fluxo sanguíneo portal, hepático e intestinal<sup>20,30</sup>. As anormalidades habituais hematológicas descritas na endotoxemia em humanos são caracterizadas por leucocitose, aumento do número de bastonetes e linfopenia. Eventualmente, pode haver leucopenia, o que parece ter um prognóstico mais sombrio. A trombocitopenia ocorre devido ao consumo periférico de plaquetas. O quadro de coagulação intravascular disseminada pode se desenvolver pelo estímulo inflamatório da coagulação e se caracteriza por facilitar o sangramento e por deposição de fibrina na microcirculação, com consequente isquemia de órgãos. No presente estudo, pode-se observar o alargamento do TAP nos ratos do grupo E, de forma significativa ( $P = 0,0355$ ), quando comparados ao grupo referência e ao grupo C-PP. Quanto à plaquetopenia, ocorreu significativamente também

no grupo E e no grupo C-LPS11. No presente estudo ocorreram alterações típicas da sepse humana na endotoxemia induzida nos ratos. Observaram-se leucocitose significativa no grupo E e nos demais grupos estes valores foram normais. Este fato pode ser explicado pelo simultâneo aumento do TNF $\alpha$ , e da IL6 que por serem citocinas pró-inflamatórias, têm ações estimuladoras na liberação de leucócitos, o que também justifica a ocorrência de bastonetes nos grupos C-LPS11 e E. A administração de endotoxina de bactérias Gram-negativas a ratos resulta em hipotensão sistêmica, aumento do hematócrito, aumento do número de leucócitos circulantes e plaquetas. Essas alterações podem ser parcialmente atribuídas à ativação do complemento e geração de anafilatoxinas pela endotoxina<sup>16</sup>. O mecanismo de ativação dos macrófagos pelo LPS conduz à biossíntese de diversos mediadores inflamatórios, como o TNF $\alpha$ , a IL-1  $\beta$  e a IL-6

e co-estimula a produção de algumas moléculas necessárias para a resposta imune adaptativa<sup>28</sup>. No presente estudo foi descrito a endotoxemia pela detecção de níveis circulantes de LPS nos grupos inoculados (C-LPS4, C-LPS11 e E) e a sua não detecção no grupo referência. Desta forma, este estudo permite descrever que a indução de pneumoperitônio em vigência de sepse pode levar a agravos decorrentes de uma forma de estimulação inflamatória sistêmica já vigente na sepse.

## CONCLUSÃO

O pneumoperitônio por dióxido de carbono induz aumentos na liberação de TNF $\alpha$ , IL6, piora das funções hepática e renal em modelo experimental de endotoxemia induzida por lipopolissacarídeo.

Macri MM, Matias JEF, Souza CJF, Nicoluzzi JEL, Caron PE, Repka JCD. Influence of pneumoperitoneum on the hepatic and renal functions and the release of pro-inflammatory cytokines in the endotoxemia model induced by lipopolysaccharide from *Escherichia coli*. ABCD Arq Bras Cir Dig 2009;22(4):206-11

**ABSTRACT – Background** – Videosurgery can bring complications with it's manipulation and among them the hyperpression into the abdominal cavity is important factor. **Aim** - To analyze the pneumoperitoneum effects in an endotoxemia experimental model caused by lipopolysaccharide. **Method** - Thirty-two Wistar rats were utilized, from which blood was collected 24 hours prior to the experiment for the initial evaluations of the renal function, the hepatic function and the endotoxic state (total counts and differential of leukocytes, platelet count and dosages of lipopolysaccharide, TNF $\alpha$ , IL6). The rats were then separated into four groups of eight: control groups inoculated with lipopolysaccharide (10 mg/kg via intraperitoneum) and kept for four and 11 hours (C-LPS4 and C-LPS11). Group C-PP, control of pneumoperitoneum by carbon dioxide at 10 mmHg for one hour and kept under observation for six hours. Experiment group (E) in which the rats were inoculated with 10 mg/kg of lipopolysaccharide via intraperitoneum and after four hours were submitted to pneumoperitoneum by carbon dioxide at 10 mmHg for one hour and kept under observation for six hours. At the end of these periods, blood samples were collected for the same initial evaluations. The T-student method was utilized for statistical comparisons of results, with a significance level of 0.05. **Results** - Compared to the initial values and the control groups, Group E had higher values in the renal function tests (creatinine=0.85  $\pm$  0.24 and urea=106.38  $\pm$  37.61 mg/dL). In the hepatic function tests, there were higher values in the dosages of direct bilirubin (0.34  $\pm$  0.09mg/dL), ALT (390,38  $\pm$  351.88) and TAP (17.01  $\pm$  2.18). The endotoxic state was confirmed by the dosages of IL6 (36.0  $\pm$  11.23 pg/mL), TNF $\alpha$  (518.36  $\pm$  203.39 pg/mL) and by the hematological alterations: reduction of platelets, increased leukocytes and band neutrophils and the detection of circulating endotoxin (0.21  $\pm$  0.08 UE/mL). **Conclusion** - Pneumoperitoneum by carbon dioxide induces increase of TNF $\alpha$ , IL6, worsens the hepatic and renal function in the experimental endotoxemia model induced by lipopolysaccharide.

**HEADINGS** - Rats. Pneumoperitoneum. Carbon dioxide. Sepsis. Lipopolysaccharide. Tumor necrosis factor-Alpha. Interleukin 6.

## REFERÊNCIAS

1. Abbas AK, Lichtman AH. Citocinas (capítulo 11), Imunidade Inata (capítulo 12). In: \_\_\_\_ Imunologia Celular e Molecular. 5ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004. p.267-301.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States, analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001;29(7):1303-1310.
3. Bacelar Junior JCS. Avaliação da ação das drogas hidrato de cloral, cetamina/xilasina e tiopental sódico na anestesia em ratos. [dissertação] Curitiba (PR): Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná; 1999.
4. Bazan JF. Emerging families of cytokines and receptors. Curr Biol. 1993;3(9):603-606.
5. Berguer R, Gutt CN, Stiegmann GV. Laparoscopic surgery in the rat: description of a new technique. Surg Endosc. 1993;7(4):345-347.
6. Bertók L. Role of endotoxins and bile acids in the pathogenesis of septic circulatory shock. Acta Chir Hung. 1997;36(4):33-36.
7. Consenso Brasileiro de Sepse. disponível em: <http://www.einstein.br/sepse/html/consenso.htm>
8. Diebel LN, Dulchavsky SA, Wilson RF. Effect of increased intra-abdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow. J Trauma. 1992;33(1):45-49.
9. Fagundes MAV, Nigro AJT, Montero EFS, et al. Efeitos do pneumoperitônio no rato. Acta Cir Bras. 2000;15(s1):39-39.
10. Fink MP. Animal models of sepsis and its complications. Kidney Int. 2008;74(8):991-993.
11. Flecknell PA, Roughan JV. Assessing Pain in Animals – putting research into practice. Animal Welfare. Animal Welfare. 2004;13:S71-S75.
12. Goldenberg A, Lobo EJ, Marcondes W, et al. Proposição de videolaparoscopia em ratos. Acta Cir Bras. 1997;12(4):219-220.
13. Guarischi A. Videocirurgia em oncologia – mitos e verdades. Rev Col Bras Cir. 2001;34(5):283-284.
14. Hajar N, Repka JCD, Canan Junior LW. Ação do pneumoperitônio com dióxido de carbono na translocação bacteriana em ratos. Acta Cir Bras. 2002;17(3):181-188.
15. Ishizaki Y, Bandai Y, Shimomura K, et al. Changes in splanchnic blood flow and cardiovascular effects following peritoneal insufflation of carbon dioxide. Surg Endosc. 1993;7(5):420-423.
16. Jansson AH, Eriksson C, Wang X. Effects of budesonide and N-acetylcysteine on acute lung hyperinflation, inflammation and injury in rats. Vasc Pharmacol. 2005;43(2):101-111.
17. Kopernik G, Avinoach E, Grossman Y, et al. The effect of a high partial pressure of carbon dioxide environment on metabolism and immune functions of human peritoneal cells-relevance to carbon dioxide pneumoperitoneum. Am J Obstet Gynecol. 1998;179(6pt1):1503-1510.
18. Kotzampassi K, Kapanidis N, Kazamias P, et al. Hemodynamic events in

- the peritoneal environment during pneumoperitoneum in dogs. *Surg Endosc.* 1993;7:494-499.
19. Matsumoto T, Dolgor B, Ninomiya K, et al. Effect of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum on the systemic and peritoneal cytokine response in a LPS-induced sepsis model. *Eur Surg Res.* 2001;33(2):71-76.
  20. McDougall EM, Bennett HF, Monk TG, et al. Functional MR imaging of the porcine kidney, physiologic changes of prolonged pneumoperitoneum. *JSL.* 1997;1(1):29-35.
  21. Melo MAC, Albuquerque OF, Gondim V. Colectomia laparoscópica em pacientes de alto risco. *Rev Col Bras Cir.* 2003;30(1):11-15.
  22. Neudecker J, Sauerland S, Neugebauer E, et al. The European Association for Endoscopic Surgery clinical practice guideline on the pneumoperitoneum for laparoscopic surgery. *Surg Endosc.* 2002;16(7):1121-43.
  23. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação, São Paulo, UNIFESP-EPM/AFIP/FAPESP, 2000. disponível em: <http://www.cobea.org/principios.htm>.
  24. Rasmussen IB, Berggren U, Arvidsson D, et al. Effects of pneumoperitoneum on splanchnic hemodynamics, a experimental study in pigs. *Eur J Surg.* 1993;161(11):819-826.
  25. Rosenthal RJ, Friedman RL, Phillips EH. *The Pathophysiology of Pneumoperitoneum.* New York, Springer, p.1-187. 1998.
  26. Santos LS, Tambara Filho R, Figueiredo TMS, et al. Effects of the pneumoperitoneum in rats submitted to a unilateral nephrectomy, morphologic and functional study on the remnant kidney. *Acta Cir Bras.* 2005;20(3):195-199.
  27. Silva E, Pedro MA, Sogayar ACB, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care.* 2004;8:251-260.
  28. Smedeegard G, Cui LX, Hugli TE. Endotoxin-induced shock in the rat. A role for C5a. *Am J Pathol.* 1989;135(3):489-497.
  29. Sprong RC, Aarsman CJ, van Oirschot JF, et al. Dimethylthiourea protects rats against gram-negative sepsis and decreases tumor necrosis factor and nuclear factor kappa $\beta$  activity. *J Lab Clin Med.* 1997;129(4):470-481.
  30. Windberger UB, Auer R, Keplinger F, et al. The role of intra-abdominal pressure on splanchnic and pulmonary hemodynamic and metabolic changes during carbon dioxide pneumoperitoneum. *Gastrointest Endosc.* 1999;49(1):84-91.

Fonte de financiamento: não há

Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 06/06/2009

Aceito para publicação: 12/10/2009