

Alterações morfológicas causadas pela reaplicação de ondas de choque eletro-hidráulicas, no rim de ratos

Vicente Massaji Kira¹, Valdemar Ortiz², Cesar Orlando Peralta Bandeira^{1*}, Hugo Meister¹, Juliano José Jorge¹ e Silvia Carreira Ribeiro¹

¹Departamento de Medicina, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

²Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil. *Author for correspondence.

RESUMO. A recidiva de cálculos urinários é freqüente, necessitando múltiplas aplicações de ondas de choque para seu tratamento. O objetivo deste trabalho é pesquisar alterações morfológicas agudas ocorridas nos rins de ratos submetidos a reaplicação de ondas de choque. Foram utilizados 48 ratos, distribuídos em 4 grupos de 12 animais. O grupo I recebeu duas aplicações de 2000 ondas de choque, com 14 KV de intensidade em intervalo de 14 dias entre as aplicações. O grupo II serviu de controle. O grupo III recebeu apenas uma aplicação. O grupo IV serviu de controle. Os rins foram examinados após 72 horas da aplicação das ondas de choque, observando: hemorragias subcapsular, intersticial e glomerular; perda da junção corticomedular; infiltrado crônico; necrose cortical e edema perivascular. Os resultados mostraram que a reaplicação de ondas de choque eletro-hidráulicas sobre rins de ratos não causou maiores danos que os produzidos pela primeira aplicação.

Palavras-chave: litotripsia, ondas de choque, ondas eletro-hidráulicas, litíase renal.

ABSTRACT. Morphologic alterations caused by electro-hydraulic shock waves reapplication in rat kidney. Urinary calculus recidives are frequents, needing shock waves multiple applications for its treatment. This research studies acute morphological changes that occur in the kidneys of rats subjected to electro-hydraulic shock waves reapplication. The experiment used 48 rats, divided in four groups of 12. The first group received two 2,000 shock waves applications with 14 kV intensity and a fourteen-day interval between the applications. The third group received only one 2,000 shock waves application of the same intensity. The second and fourth groups were control groups. The kidneys were examined 72 hours after the application, observing: subcapsular, interstitial and glomerular hemorrhage; corticol results showed that electro-hydraulic shock reapplication in the rat kidneys didn't greater damages than the first application.

Key words: lithotripsy, shock waves, electro-hydraulic waves, kidney stones.

A doença litíásica urinária atinge 3 a 5% da população (Scott *et al.*, 1977), com morbidade de 2 a 3% causando enormes prejuízos sócio-econômicos. (Chaussy *et al.*, 1982).

O tratamento desta afecção consistia na operação aberta, procedimentos com cistoscópio, extração com sondas, fragmentação com ureterorenoscópio ou cirurgia percutânea para a maioria dos cálculos que não eram eliminados espontaneamente.

Chaussy *et al.* (1980) usaram, pela primeira vez em humanos, ondas de choque geradas eletricamente para fragmentar cálculos renais e iniciar uma nova era do tratamento da litíase urinária.

Cerca de 91,5% dos pacientes submetidos à litotripsia com cálculos renais de até 2 cm

eliminaram totalmente os fragmentos com apenas uma aplicação de ondas de choque, 7 % necessitaram de uma reaplicação e 1,5% necessitaram de duas ou mais reaplicações (Fuchs *et al.*, 1985). Nos cálculos com mais de 2 cm, 16 a 32% necessitaram de duas ou mais reaplicações (Kelley, 1990).

Nos casos de cálculos coraliformes, o número de reaplicações variou de uma até oito, com média de 3,6 reaplicações (Mattelaer *et al.*, 1997).

Recker *et al.* (1989) estudaram rins de 54 ratos submetidos à aplicação de 500, 1.000 e 2.000 ondas de choque e observaram, após 24 horas, 7 dias e 35 dias. Encontraram alterações morfológicas como hemorragia glomerular, dilatação tubular, atrofia e necrose parcial imediatamente após a aplicação. Nos demais períodos de observação, encontraram poucos

casos de fibrose cicatricial e esclerose tubular sem significância estatística.

Weber *et al.* (1992) pesquisaram rins de ratos submetidos a 1.000 ondas de choque. O exame microscópico revelou hemorragia subcapsular, ruptura de veias interlobares e arqueadas levando à hemorragia intersticial e intrapiélica.

Weichert-Jacobsen *et al.* (1997) aplicaram 1000, 2000 e 3000 ondas e encontraram necrose tubular em rins de ratos e correlação direta entre o número de ondas de choque e a intensidade da necrose no experimento.

Na literatura pesquisada, as alterações morfológicas na aplicação de ondas de choque eletro-hidráulicas foram bem estudadas, porém não foram encontrados estudos sobre a reaplicação.

Considerando a importância clínica das alterações quanto à lesão renal na vigência da reaplicação das ondas de choque eletro-hidráulicas, assim como no intervalo destas, surgiu a motivação para a realização deste estudo.

Material e métodos

Foram utilizados 48 ratos machos, adultos, da linhagem Wistar, *Rattus norvegicus albinus* (Berk.), com 90 dias de idade e peso entre 270 e 310 g, provenientes do biotério central da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sendo todos submetidos às mesmas condições ambientais.

As operações foram realizadas no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UEM. As aplicações de ondas de choque eletro-hidráulicas foram realizadas na UROTEC (Centro de Tratamento de Litíase Urinária), com aparelho modelo TRIPTER X1 da marca DIREX.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos:

- Grupo I: 12 animais submetidos a duas aplicações de 2.000 ondas de choque eletro-hidráulicas a 14 KV de intensidade, com intervalo de 14 dias totalizando 4.000 ondas.
- Grupo II: 12 animais não submetidos à aplicação de ondas de choque, sendo controle do grupo I.
- Grupo III: 12 animais submetidos a uma aplicação de 2.000 ondas de choque eletro-hidráulicas a 14 KV de intensidade.
- Grupo IV: 12 animais não submetidos à aplicação de ondas de choque, sendo controle do grupo III.

O experimento foi dividido em três fases:

- A. colocação de marcador radiopaco no rim direito, fase comum a todos os animais;
- B. aplicação de ondas de choque com uma ou duas seções, dependendo do grupo;

C. nefrectomia direita e eutanásia.

Os animais foram pesados e anestesiados com solução de xilazina e cloridrato de quetamina na diluição de 1:1, na dose de 0,1ml por 100 g de peso corporal, em injeção intramuscular. Foram mantidos em ventilação espontânea durante todo o procedimento sem necessidade de doses complementares.

Foi realizada tricotomia, fixado em decúbito dorsal e horizontal sobre goteira operatória, realizada assepsia e anti-sepsia com proteção de região operatória com pano fenestrado e esterilizado.

A laparotomia mediana foi realizada em todos os animais por meio de uma incisão longitudinal mediana, de 5 cm interessando pele, tela subcutânea, linha alba e peritônio, iniciando no processo xifóide em direção ao púbis.

O rim direito foi exposto e marcado com fio radiopaco, suturado na gordura renal próximo à pele; posteriormente foi reposicionado na loja renal.

A parede abdominal foi fechada com sutura contínua com fio catgut simples 4-0, interessando os planos aponeurótico e peritoneal. A pele foi fechada com fio mononylon 5-0 em pontos separados.

Após 10 dias, os animais foram radiografados para certificar a localização do marcador.

Decorridos 14 dias, os animais do grupo I e III foram anestesiados com a mesma técnica utilizada na operação e submetidos à aplicação de ondas de choque eletro-hidráulicas, com aparelho de litotripsia, modelo TRIPTER X1.

Uma vez localizado e focalizado o marcador radiopaco no monitor, o aparelho foi ligado e foram aplicadas 2000 ondas a 14 KV de intensidade.

Após 14 dias da primeira aplicação, os animais do grupo I foram submetidos a uma segunda aplicação com a mesma técnica.

Após 72 horas da aplicação ou reaplicação de ondas de choque eletro-hidráulicas, os animais do grupo I e III, bem como os seus respectivos controles foram anestesiados e reoperados.

Foi utilizada a mesma técnica da colocação do marcador. Por meio de laparotomia mediana foram observadas as seguintes alterações macroscópicas: aderências das vísceras ao rim, hemorragia subcapsular do rim, sufusão hemorrágica renal, congestão renal. Foi chamada de aderência a sinéquia entre órgãos vizinhos por processo reativo cicatricial; de hemorragia subcapsular ao extravasamento sanguíneo abaixo da cápsula; de sufusão hemorrágica ao foco de sangramento parenquimatoso; de congestão a hiperemia por

estase e maior afluxo de sangue. Em seguida, foi realizada a nefrectomia direita e a eutanásia através de exanguinação.

Imediatamente após a nefrectomia, o rim foi bipartido, analisado macroscopicamente e fixado em solução de formol 10% durante 24 horas e, a seguir, os ratos foram processados e corados pela técnica da hematoxilina e eosina (HE) e pela técnica do tricrômio de MASSON, sendo realizada a análise por microscopia óptica.

Os parâmetros estudados foram: hemorragia subcapsular, hemorragia intersticial, hemorragia glomerular, edema perivascular, infiltrado crônico e necrose cortical.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente com aplicação do teste da partição do Quiquadrado. Fixou-se em 0,05% ($\alpha \leq 0,05$) o nível de rejeição da hipótese de medida de nulidade.

Resultados

O apagamento da junção corticomedular ocorreu em sete animais do grupo I e sete do grupo III.

Em todo o experimento, somente um animal do grupo III desenvolveu hidronefrose.

A presença de hemorragia intersticial no rim ocorreu em 58% dos animais do grupo I e 42% dos animais do grupo III, não diferindo significativamente.

A ocorrência de infiltrado inflamatório crônico também não diferiu significativamente entre os dois grupos estudados, entretanto foi maior no grupo I.

A hemorragia glomerular ocorreu em um rato submetido a duas aplicações de ondas eletro-hidráulicas e também em um animal submetido a somente uma aplicação.

A hemorragia subcapsular e o edema perivascular observados nos rins dos animais não apresentaram diferenças significantes.

Ocorreu necrose cortical no rim de um rato do grupo I.

Os animais dos grupos controles (II e IV) não apresentaram alterações morfológicas, sendo considerados normais.

Discussão

Embora existam alguns estudos clínicos experimentais de autores que pesquisaram os efeitos das ondas de choque sobre o rim, não foram encontrados trabalhos na literatura pesquisada que estudassem as alterações morfológicas da reaplicação de ondas de choque.

Utilizou-se como modelo experimental o rim de rato pois esse animal é de fácil manipulação e se adapta bem ao estudo (Ferreira *et al.*, 1995)

A escolha do litotritador TRIPTER X1 se deve ao fato de produzir ondas do tipo eletro-hidráulicas e de ser dotado de fluoroscopia bidimensional para localização do cálculo. Por essa razão, faz-se necessária a utilização de um marcador radiopaco no rim.

Os princípios da acústica explicam que a força de destruição das ondas de choque é o resultado do gradiente de pressão criado quando uma onda atravessa meios de transporte de impedância acústica diferentes. Esse gradiente de pressão cria uma força de tensão de descompressão na superfície do material sólido. Quando a força de tensão e descompressão é maior que a força de agregação desse sólido, ocorre a desintegração do mesmo, no caso o cálculo (Brendel, 1986; Delius *et al.*, 1988)

A escolha da intensidade empregada nesse estudo deveu-se às características do litotritador. A intensidade de 14KV produz uma pressão de 540bar nesse aparelho, suficiente para fragmentar a maioria dos cálculos. Além disso, deve-se considerar que a pressão efetiva no rato é aproximadamente 20% maior que a observada nos humanos, devido à existência da parede muscular e de tecido gorduroso mais espesso nestes, o que atenuaria os efeitos das ondas.

Na presente pesquisa, optou-se pela aplicação de 2000 ondas para garantir as possíveis alterações renais e também porque a média de número de ondas de choque utilizada no tratamento de cálculos urinários varia de 1000 a 2000 por sessão. (Drach *et al.*, 1988).

O intervalo de 14 dias entre as duas aplicações foi determinado de forma aleatória, já que na prática clínica não existe um consenso sobre qual deve ser o intervalo seguro entre as aplicações.

O período estabelecido para avaliação do experimento foi de 3 dias após aplicação das ondas de choque, para verificar os fenômenos agudos.

Em relação às alterações histológicas agudas causadas pelas ondas de choque, os relatos da literatura são discordantes. Estudos iniciais demonstraram que as ondas de choque atravessaram tecidos sofrendo pouca atenuação da sua energia, produzindo lesões teciduais mínimas (Chaussy *et al.*, 1984). Estudos subseqüentes revelaram apenas graus mínimos de lesão, que se resolveram prontamente (Kelley, 1990).

Weber *et al.* (1992), nos seus achados macroscópicos de rins de ratos submetidos à aplicação de ondas de choque, encontraram

hemorragia do parênquima renal em 75% dos rins e hemorragia na junção corticomedular em 40%, em concordância com os presentes achados, em que a presença de hemorragia foi de 58,3% no grupo submetido a duas aplicações e 41,7% no grupo submetido a uma aplicação. Esses mesmos autores observaram que 25% dos rins apresentaram-se normais ou com alterações mínimas, como petéquias. Neste estudo, a aplicação prévia das ondas de choque não aumentou o índice de hemorragia intersticial com uma segunda aplicação com intervalo de 14 dias.

A ocorrência de hemorragia subcapsular foi um achado freqüente. Na literatura variou de 35% a 66% (Neuerburg et al., 1989; Recker et al., 1992; Weber, 1992).

Neste experimento, a presença de hemorragia subcapsular foi ligeiramente superior no grupo com duas aplicações (58%), em comparação com o grupo com uma aplicação (50%), embora sem significância estatística.

A perda da junção corticomedular foi um achado importante nas observações de Neuerburg et al. (1989): em 54 rins estudados, 63% apresentaram perda da junção corticomedular. No presente estudo, notou-se que a reaplicação em intervalo de 14 dias não aumentou a freqüência da perda da junção corticomedular.

Esse mesmo autor encontrou alguns casos de hemorragia glomerular e ruptura da cápsula de Bowman. No presente estudo, foi detectado um caso de hemorragia glomerular, tanto no grupo I como no grupo III, correspondendo a 8,33% e não houve diferença entre os grupos.

Parâmetros histológicos, como o infiltrado crônico, que foi evidenciado em 41% no grupo I e 25% no grupo III, a necrose cortical focal, que foi detectada em um caso (8,33%), bem como a hidronefrose, que foi observada em um caso (8,33%) no grupo I, não foram citados por outros autores.

O achado de edema perivascular foi de 100% nos dois grupos que receberam ondas de choque, mas não foi observado por outros autores, ficando a questão aberta para estudar uma eventual importância para esse achado. Interessante comentar que os rins humanos têm volume e pesos muito superiores aos rins de rato. Neste trabalho, quando foram aplicadas ondas de choque, todo o parênquima renal foi atingido, algo que não ocorre em humanos quando submetidos a tratamento. Portanto, o fato de não se observar alterações significativas em animais de pequeno porte pode sugerir maior segurança das aplicações de ondas de choque em humanos.

Parece que o intervalo de 14 dias é seguro para reaplicação das ondas de choque, no entanto, há necessidade de dar continuidade nessa linha de pesquisa, avaliando intervalos menores de tempo e outros parâmetros funcionais.

A reaplicação de ondas de choque eletro-hidráulicas em rim de ratos com intervalo de 14 dias, não acrescentou danos renais adicionais aos achados morfológicos verificados na primeira aplicação.

Referências

- BRENDEL, W. Shock waves: a new physical principle in Medicine. *Eur. Surg. Res.*, Basel, v. 18, n. 1, p.177-80, 1986.
- CHAUSSY, C. et al. Extracorporeally induced destruction of kidney stones by shock waves. *Lancet*, New York, v. 2, n.2, p. 1265-71, 1980.
- CHAUSSY, C. et al. The use of shock waves for the destruction of renal calculi without direct contact. *Urol. Res.*, Berlin, v. 4, n.1, p. 175, 1976.
- CHAUSSY, C. et al. First clinical experience with extracorporeally induced destruction of kidney stones by shock waves. *J. Urol.*, Baltimore, v.127, n. 3, p.417-20,1982.
- CHAUSSY, C. et al. Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) for treatment of urolithiasis. *Urology*, Baltimore, v.23, n.1, p.59-66,1984.
- DRACH, O.W. et al. Report of the United States cooperative study of extracorporeal shock wave lithotripsy. *J. Urol.*, Baltimore, v.135, n.3, p.1127-33, 1986.
- DELIUS, M. et al. Biological effects of shock waves: kidney damage by shock waves in dogs dose dependence. *Ultrasound Med. Biol.*, New York, v.14, n.2, p. 117-22, 1998.
- FERREIRA, U. et al. Functional and histologic alterations in growing solitary rat kidneys as result of extracorporeal shockwaves. *J. Endourol.*, Basel, v. 9, n. 1, p. 45-9, 1995.
- FUCHS, G. et al. Extracorporeal shock waves lithotripsy: one - year experience with dornier lithotripter. *Eur. Urol.*, Basel, v.11, n. 2, p. 145-9, 1985.
- KELLEY, M.J. Extracorporeal shock waves lithotripsy of urinary calculi theory, efficacy and adverse effects. *West J. Med.*, Leesburg, v.153, n. 2, p. 65-9, 1990.
- MATTELAER, P. et al. Long-term follow-up after primary extracorporeal shock wave lithotripsy monotherapy of staghorn calculi: results after more than 6 years. *Acta Urol. Belg.*, Basel, v. 65, n.3, p. 41-5, 1997.
- NEUERBURG, J. et al. Effects of lithotripsy on rat kidney: evaluation with mr imaging, histology and electron microscopy. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, Philadelphia, v. 13, n.4, p. 82-9, 1989.
- RECKER, F. et al. Morphological changes following eswl in the rat kidney. *Urol. Res.*, Berlin, v. 17, n.2, p. 22-33, 1989.
- RECKER, F. et al. Quantitative determination of urinary marker proteins: a model to detect intrarenal bioeffects

after extracorporeal lithotripsy. *J. Urol.*, Baltimore, v. 148, n.3, p.1000-6, 1992.

SCOTT, R. *et al.* The prevalence of calcified upper urinary tract stone disease in a random population Cumberland health survey. *Br. J. Urol.*, Oxford, v. 49, n.4, p.589-95, 1977.

WEBER, C. *et al.* Injury of renal vessels following extracorporeal shock wave treatment. *J. Urol.* Baltimore, v. 147, n.3, p.4766-81, 1992.

WEICHERT-JACOBSEN, K. *et al.* Morphological Correlates of Urinary Enzyme Loss After Extracorporeal Lithotripsy. *Urol. Res.*, Berlin, v. 25, n.2, p.257-62, 1997.

WILLIAMS, C.M. *et al.* Extracorporeal shock wave lithotripsy long-term complications. *AJR.*, Leesburg, v. 150, n.3, p.11-5, 1988.

Received on March 06, 2001.

Accepted on May 15, 2001.