

Modelo experimental de aneurisma sacular de artéria ilíaca comum com pericárdio bovino em suínos

Experimental model of saccular aneurysm of the common iliac artery with bovine pericardium in pigs

Luís Henrique Gil França¹, Adamastor Humberto Pereira², Sílvio César Perini³, Rodrigo Argenta³, Celso Curcio Aveline⁴, Roseli de Oliveira Mollerke⁵, Marcos Eugenio Soares⁶, Fernanda Nóbrega⁶, Márcio Poletto Ferreira⁶

Resumo

Objetivo: Desenvolver um novo modelo experimental de pseudoaneurisma sacular de artéria ilíaca comum com o uso de remendo de pericárdio bovino em suínos.

Método: Foram utilizados dois suínos da raça Landrace, com peso de 30 kg e do sexo feminino. Os animais foram submetidos a anestesia geral e a laparotomia com acesso extraperitoneal da aorta infrarenal e artérias ilíacas. Após heparinização sistêmica e pinçamento, foram efetuadas arteriotomia longitudinal e sutura do pericárdio bovino em formato de bolsa previamente confeccionada. Os animais permaneceram confinados por 3 semanas e então foram submetidos a arteriografia para avaliação da perviedade do aneurisma e, posteriormente, sacrificados.

Resultado: Os animais sobreviveram ao experimento e apresentaram aneurismas pérvios no momento do sacrifício. Não houve ocorrência de ruptura de aneurismas.

Conclusão: O modelo proposto é viável e tem potencial para ser utilizado no estudo e desenvolvimento de novas próteses endovasculares.

Palavras-chave: aneurisma aórtico, artérias, modelos animais.

Abstract

Objective: To develop an experimental model of saccular pseudoaneurysm of the common iliac artery with bovine pericardium in pigs.

Method: The animals used were two 30-kg female pigs from the Landrace specimen. The animals were submitted to general anesthesia and laparotomy with extraperitoneal access to infrarenal aorta and the iliac arteries. After systemic heparin and clamping, the iliac artery was opened and the pericardium sutured to the vessel wall. All animals were confined for 3 weeks and were sacrificed after performing an arteriography to verify the patency of the aneurysm.

Result: All animals survived the procedure and the aneurysms were patent. No rupture was detected.

Conclusion: This is a feasible pig model of iliac artery aneurysm with potential for further studies to develop new endovascular prostheses.

Key words: aortic aneurysm, arteries, animal models.

O aneurisma isolado da artéria ilíaca é aquele que acomete uma ou mais artérias ilíacas, sem concomitância de outros aneurismas em outra localização. É uma entidade rara, e a artéria ilíaca comum é acometida com maior frequência, seguida da artéria ilíaca interna, com a artéria ilíaca externa sendo raramente afetada por

razões ainda não compreendidas. A maior parte está associada à doença aterosclerótica, como os aneurismas de aorta, e sugere-se que placas de ateroma contribuam enfraquecendo a parede da artéria¹. A história natural não é bem definida, por serem raros e pela falta de seguimento por métodos de imagem.

O tratamento cirúrgico está indicado quando o diâmetro do aneurisma é de 3 cm. A taxa de mortalidade por ruptura está entre 25-57%, enquanto a taxa por cirurgia eletiva é de 5%¹. A abordagem terapêutica do aneurisma de ilíaca ultimamente vem passando por profundas mudanças nos conceitos inicialmente estabelecidos para seu tratamento. Com os experimentos de Parodi em 1991, surgiu um novo método, menos invasivo, de correção dos aneurismas: a cirurgia endovascular². O entusiasmo de poder tratar o aneurisma da

1. Mestre. Cirurgião vascular. Doutorando em Cirurgia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.
2. Professor adjunto, UFRGS. Chefe do Serviço de Cirurgia Vascular, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS.
3. Cirurgião vascular. Mestrando em Cirurgia, UFRGS, Porto Alegre, RS.
4. Anestesiologista, Hospital São Lucas, Porto Alegre, RS.
5. Doutora. Professora, Fac. de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS.
6. Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Artigo submetido em 26.09.05, aceito em 18.11.05.

aorta e outras artérias de uma forma menos agressiva levou alguns pesquisadores a publicar resultados bem promissores de seus experimentos³. Então, surgiu a necessidade do desenvolvimento de modelos experimentais em animais, o mais parecido possível com as características morfológicas e hemodinâmicas do ser humano, para estudo da patogênese e da terapêutica dos aneurismas.

O objetivo desta pesquisa é desenvolver um modelo experimental de aneurisma de artéria ilíaca em suínos, com remendo de pericárdio bovino.

Material e método

O trabalho foi realizado na Unidade de Experimentação Animal no Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CP/HCPA), vinculado à Universidade Federal de Rio Grande do Sul. O projeto foi enviado à Comissão Científica e Comitê de Ética do Grupo de Pós-graduação e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para apreciação dos comemo-rativos éticos envolvidos no estudo. O projeto foi aprovado para realização da parte experimental pela Comissão de Ética do CP/HCPA.

Os animais utilizados foram suínos da raça Landrace, com idade aproximada de 8 semanas, com peso de 30 kg, alimentação independente e fornecidos pelo mesmo produtor. A amostra utilizada neste estudo consistiu de dois animais. Os animais foram alojados em baias com água *ad libitum* e alimentados com ração (AVIPAL[®]) sem suplementação lipídica adicional, balanceada e adaptada para a idade.

A perviedade dos aneurismas foi confirmada pela realização de arteriografias seletivas, utilizando um aparelho fixo (GE[®]). A arteriografia foi realizada no CP/HCPA.

Variáveis em estudo

Perviedade da artéria ilíaca dos suínos após a realização do modelo experimental do aneurisma;

Perviedade e biocompatibilidade do aneurisma de remendo de pericárdio bovino.

Técnica anestésica

Os animais foram submetidos a um jejum alimentar de 12 horas para dieta sólida e de 4 horas para dieta líquida. A técnica utilizada será anestesia geral inalatória, utilizando um sistema fechado com reinalação (modelo HUSKY – CALGIMED[®]).

O estudo foi dividido em duas fases. Todos os animais foram pesados antes da indução pré-anestésica. Em ambas as fases, a anestesia do animal foi realizada de acordo com o protocolo de anestesia geral para suínos do CP/HCPA, sendo utilizada a Tiletamina como medicação pré-anestésica, aplicada por via intramuscular, 5 minutos antes de iniciar o procedimento. A via de acesso venosa utilizada para infusão de líquidos e drogas foi a veia marginal da orelha. A anestesia parenteral foi realizada com ketamina e xilasina, e a reposição hídrica foi obtida com solução fisiológica 0,9% a 20 ml/kg/hora. A anestesia inalatória foi mantida com isoflurano 2%.

Procedimento cirúrgico

Na primeira fase, foi realizada uma incisão paramediana esquerda com dissecação da artéria ilíaca comum esquerda. Foi administrada heparina endovenosa (5.000 U); após, foram pinçadas a artéria proximal e distal. A seguir, foram realizadas a arteriotomia e sutura de remendo de pericárdio bovino com fio de polipropileno 5.0 em forma de bolsa e fechamento da cavidade com fio de vicril 3.0 (Figura 1).

Na segunda fase, 21 dias após a primeira, foram realizadas arteriografias para confirmação da perviedade dos aneurismas (Figura 2). Os animais foram anestesiados e sacrificados, através de injeção intracardíaca de cloreto de potássio, conforme o protocolo do CP/HCPA. As artérias ilíacas com os aneurismas de pericárdio bovino foram retiradas em monoblocos para a realização de exame anatomopatológico (para avaliação do grau de endotelização e trombos intramurais).

Preparo do tecido para análise patológica

Os tecidos retirados foram fixados com solução de aldeído fórmico a 10% e posteriormente conservados a 4 °C por 10 dias. Após a fixação do segmento ressecado, a artéria ilíaca comum foi excisada e realizada nova macroscopia, descrevendo, se houve, as alterações. Os segmentos foram processados e incluídos em blocos de parafina e posteriormente submetidos a cortes histológicos medindo 4 µm de espessura. As lâminas contendo os cortes de tecidos foram preparadas e coradas com hematoxilina-eosina.

Resultados

Os animais sobreviveram ao experimento, e não ocorreram intercorrências clínicas durante o período

do estudo. Os aneurismas estavam pérvios no momento do sacrifício. Não houve ocorrência de ruptura de aneurismas. Ao exame, o pericárdio bovino apresentou boa integração à parede do vaso, ausência de trombos murais e endotelização.

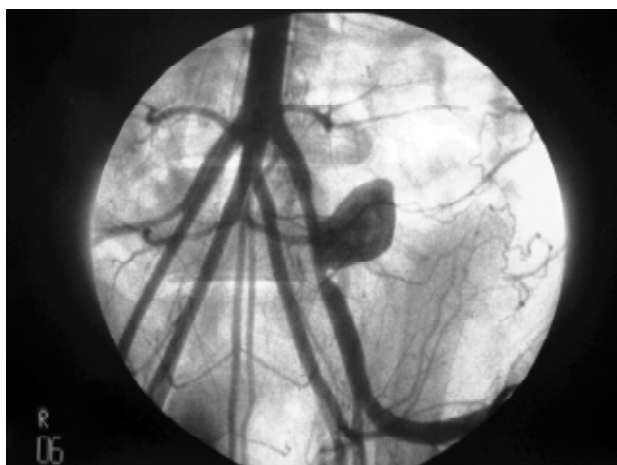


Figura 1 - Arteriografia pós-operatória demonstrando aneurisma de artéria íliaca esquerda

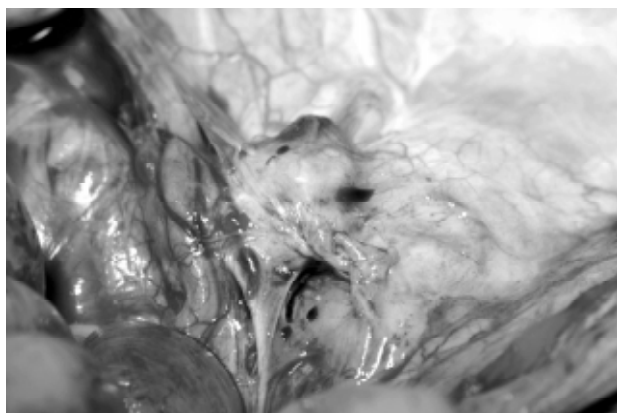


Figura 2 - Peça cirúrgica de aneurisma de artéria íliaca com pericárdio bovino (exame anatomopatológico)

Discussão

Em 1999, Wolf *et al.* estabeleceram que o modelo suíno tem como vantagens o fácil manejo dos vasos de grosso calibre e o fato de o metabolismo lipídico, o perfil lipoprotéico e a agregação plaquetária serem semelhantes aos humanos, além de que, após a lesão endotelial, ocorre formação de trombo e deposição de fibrina, de maneira similar com humanos. Todavia,

existem desvantagens, como o rápido aumento de peso, o gasto com a manutenção e a suscetibilidade à fibrilação ventricular quando da realização de oclusão coronária durante um procedimento de angioplastia. Outros animais, como os primatas, apresentam características muito semelhantes aos humanos, conforme as citadas acima, porém apresentam muita sensibilidade, a dieta varia conforme a espécie, são de difícil manuseio, além de os estudos apresentarem um custo muito elevado. Por esses motivos, o suíno foi escolhido como modelo experimental⁴.

Com um modelo experimental introduzido em 1990 por Anidjar *et al.*, foi possível um grande avanço na compreensão da importância do processo inflamatório na gênese e no desenvolvimento dos aneurismas, relacionando a degradação da elastina e substituição por fibras de colágeno tipos I e III como responsáveis pela formação e expansão dos aneurismas⁵. Boudghene *et al.* utilizaram elastase para criar aneurisma de aorta abdominal em cães. As artérias lombares foram ligadas nos dois lados exceto distais ao segmento desejado. Após a administração de heparina endovenosa e pinçamento do segmento de aorta desejado, foi iniciada a infusão de 2.800 U de solução de elastase porcina tipo I na taxa de 60 ml/h durante 40 minutos. Todos os animais desenvolveram aneurisma com diâmetro de aproximadamente 100% acima do valor inicial. O exame histológico mostrou a lâmina elástica fragmentada em todas as sessões e desaparecida em algumas áreas⁶. Essa alteração patológica assemelha-se aos aneurismas de aorta abdominal de humanos. No entanto, a ligadura das lombares não torna esse modelo ideal para testar vazamentos e a tendência à ruptura.

Hallisey criou um aneurisma de aorta infra-renal em cães utilizando técnicas endovasculares para dilatar a aorta cerca de duas vezes o seu diâmetro. Então, foi criado um aneurisma fusiforme com as artérias lombares preservadas⁷. Porém, a morfologia desse aneurisma é estável, sem expansão e sem tendência à ruptura. Pode ser utilizado para treinamento em procedimentos endovasculares.

Vários estudos já desenvolveram modelos de aneurisma de aorta, principalmente em cachorros e porcos. Esses aneurismas foram criados mediante sutura de um remendo de material sintético (PTFE ou Dacron[®]), fâscia, peritônio, intestino e também pela interposição de um seguimento de veia jugular interna bovina conservado em glutaraldeído após a ressecção do segmento de aorta infra-renal⁸⁻¹³. A vantagem deste último mo-

delo é a forma. Entretanto, no intuito de estudar novas técnicas endovasculares, esse modelo perde a função de avaliar os tipos de vazamentos e de selar a parede da aorta, já que os vasos colaterais não estão pérvios. Os modelos que utilizam remendo na parede anterior são bem aceitos, com a principal vantagem de manter a perviedade das artérias lombares. Maynar *et al.*, em estudo de aneurisma de aorta abdominal com o remendo de peritônio, concluíram que esse modelo representa a capacidade de expansão, ruptura e perviedade dos ramos colaterais, sendo um modelo factível para o estudo de endopróteses¹².

No estudo *Nine year experience of bovine pericardium patch angioplasty during carotid endarterectomy*, os autores analisam o resultado do uso de remendo de pericárdio bovino preparado com glutaraldeído para arterioplastia pós-endarterectomia de carótida¹⁴. O pericárdio cru é retirado com saco intacto de animais com menos de 1 ano e tratado com solução de glutaraldeído. Após, trata-se com solução de etanol e óxido de propileno para retirar o glutaraldeído residual, já que um resíduo de 4 ppm se mostrou tóxico para os fibroblastos. Este tecido é relativamente acelular, e sua constituição primária é de colágeno tipo I, sofrendo um processo de endotelização. O glutaraldeído serve para ligar os grupos de amins e esterilizá-los. Esse *cross linking* das moléculas de colágeno mascara os sítios antigênicos e os sítios das proteases de clivagem, retardando a sua degradação. O material foi preparado em glutaraldeído para diminuir a antigenicidade, fortalecer e aumentar a resistência à degradação. Os remendos periféricos apresentam menores índices de calcificação quando comparados com as válvulas cardíacas. A dilatação aneurismática no enxerto de pericárdio deve-se à degeneração resultante da antigenicidade. Porém, por ser um material acelular, essa resposta é mínima, não havendo relatos de ruptura como há com próteses de veia ou material sintético¹⁵⁻¹⁷.

No presente estudo, o desenvolvimento do modelo proposto é viável e tem potencial para ser utilizado no estudo e desenvolvimento de novas próteses endovasculares. Trata-se de modelo único que utiliza material biocompatível de baixo custo. O uso de pericárdio bovino, além das vantagens econômicas, apresenta facilidade de manuseio pelo cirurgião e características muito semelhantes ao tecido autólogo na sua integração à parede vascular. Não há relato na literatura sobre a realização desse modelo com remendo de pericárdio bovino.

Referências

1. França LH, Bredt CG, Back LA, *et al.* Tratamento cirúrgico do aneurisma isolado da artéria ilíaca. *Rev Angiol Cir Vasc.* 2002;11:166-71.
2. Parodi JC. Endovascular repair of abdominal aortic aneurysms and other lesions. *J Vasc Surg.* 1995;21:549-57.
3. Quinn SF, Sheley RC, Semonsen KG, *et al.* Endovascular stents covered with pre-expanded polytetrafluoroethylene for treatment of iliac artery aneurysms and other fistulas. *J Vasc Interv Radiol.* 1997;8:1057-63.
4. Wolf YG, Gertz D, Banai S. Animal models in syndromes of accelerated arteriosclerosis. *Ann Vasc Surg.* 1999;13:328-38.
5. Anidjar S, Salzmann JL, Gentric D, *et al.* Elastase-induced experimental aneurysms in rats. *Circulation.* 1990;82:973-81.
6. Boudghene FP, Sapoval MR, Bonneau M, *et al.* Abdominal aortic aneurysms in sheep: prevention of rupture with endoluminal stent-grafts. *Radiology.* 1998;206:447-54.
7. Hallisey MJ. 1997 SCVIR Gary J. Becker Young Investigator Award Paper. A transluminally created abdominal aortic aneurysm model. *J Vasc Interv Radiol.* 1997;8:305-12.
8. Wisselink W, Abruzzo FM, Shin CK, *et al.* Endoluminal repair of aneurysms containing ostia of essential branch arteries: an experimental model. *J Endovasc Surg.* 1999;6:171-9.
9. Lerouge S, Raymond J, Salazkin I, *et al.* Endovascular aortic aneurysm repair with stent-grafts: experimental models can reproduce endoleaks. *J Vasc Interv Radiol.* 2004;15:971-9.
10. Diaz S, Uzieblo MR, Desai KM, *et al.* Type II endoleak in porcine model of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2004;40:339-44.
11. Soula P, Janne d'Othee B, Otal P, *et al.* Macroporous polyester-covered stent in an experimental abdominal aortic aneurysm model. *J Endovasc Ther.* 2001;8:390-400.
12. Maynar M, Qian Z, Hernandez J, *et al.* An animal model of abdominal aortic aneurysm created with peritoneal patch: technique and initial results. *Cardiovasc Interv Radiol.* 2003;26:168-76.
13. Faries PL, Sanchez LA, Marin ML, *et al.* An experimental model for the acute and chronic evaluation of intra-aneurysmal pressure. *J Endovasc Surg.* 1997;4:290-7.
14. Whitebread T, Birch P, Rogers S, *et al.* A new animal model for abdominal aortic aneurysms: initial results using a multiple-wire stent. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996;11:90-7.
15. Biasi GM, Sternjakob S, Mingazzini PM, *et al.* Nine year experience of bovine pericardium patch angioplasty during carotid endarterectomy. *J Vasc Surg.* 2002;36:271-7.
16. Anacleto JC, Sanchez RR, Mingardi AL. Bioprótese de pericárdio bovino como substituto arterial no tratamento do aneurisma de aorta abdominal. *Cir Vasc Angiol.* 1993;9(Supl):35.
17. Salles CA, Puig IS, Casagrande GL, *et al.* Early experience with crimped bovine pericardial conduit for arterial reconstruction. *Eur J Cardiovasc Surg.* 1991;5:273.

Correspondência:

Luís Henrique Gil França
Rua Coronel Dulcídio, 1189/1801
CEP 80250-100 – Curitiba, PR
Tel.: (41) 3343.0963
E-mail: luishgf@hotmail.com