

USO DE ESPONJA HEMOSTÁTICA DE GELATINA PARA O DESENVOLVIMENTO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO EM SUÍNOS

[Use of the haemostatic gelatin sponge for development of the acute myocardium infarct in swine]

Érika Branco^{1,*}, Ana Rita Lima¹, Vivian Yochico Samoto², Emerson Ticona Fioretto³, Guilherme José Ferreira⁴, Rosa Cabral⁵, Guilherme Buzon Gregores⁶, Carlos Alberto Palmeira Sarmento⁶, Ângelo João Stopiglia⁶, Andréia Micke Moreno⁶, Paulo César Maiorka⁶, Maria Angélica Miglino⁶

¹Instituto de Saúde e Produção Animal – ISPA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Campus de Belém, Belém, PA, Brasil.

²Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Morfologia, UFSE, Aracajú, SE, Brasil.

⁴Centro de Ciências Agrária, FMV, UFPI, Campus “Prof. Cinobelina Elvas” – CPCE – UFPI, Bom Jesus, PI, Brasil.

⁵Centro de Ciências Agrária, FMV, UFPI, Campus de Teresina, Teresina, PI, Brasil.

⁶Departamento de Cirurgia, FMVZ, USP, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO - O infarto agudo do miocárdio resulta da obstrução temporária de uma coronária com redução de sangue para parte do miocárdio, bastando alguns minutos de interrupção do fluxo sanguíneo para estabelecer a injúria. Foi cateterizado a porção distal da origem do 1º ramo diagonal da artéria coronária interventricular esquerda de dois suínos e infundida solução de esponja hemostática de gelatina. Pós um período de 21 dias os animais foram eutanasiados e o coração foi processado para microscopia de luz, revelando expressiva cicatriz na região apical do ventrículo esquerdo em um animal enquanto que no outro, a lesão estava localizada na parede ventricular esquerda, e com menor extensão. Foi possível observar também a presença de áreas não pertencentes à região infartada, com grande depósito de colágeno, sugerindo um processo bastante heterogêneo. Desta forma, podemos concluir que esta técnica não é interessante para o desenvolvimento de modelo experimental de infarto agudo do miocárdio.

Palavras-Chave: Infarto agudo do miocárdio, modelo animal, esponja de gelatina hemostática.

ABSTRACT - The acute infarction of myocardium results of the temporary blockage of coronary with reduction of blood for part of the myocardium, some minutes of interruption of the sanguineous flow are sufficient for the establishment of injury. Was catheterized the distal portion of the origin of the first diagonal branch of coronary interventricular left artery from two swine and a solution of haemostatic gelatin sponge was infused. After a period of 21 days the animals had been euthanized and the heart was processed for light microscopy, show an expressive scar in the apical region of the left ventricle in an animal whereas in the other, the injury was located in the left ventricular wall, and with lesser extension. It was possible also to observe the presence of areas not pertaining to the infarction region, with great collagen deposit, suggesting a heterogeneous process. In such a way, we can conclude that this technique is not interesting for the development of acute experimental model of infarction of the myocardium.

Keywords: Acute myocardial infarct, animal model, gelatin haemostatic sponge.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares permanecem como uma grande causa de mortalidade na população de nosso país, sendo o que o infarto agudo do miocárdio (IAM) se sobressai entre elas. Entre os sobreviventes

desta patologia, muitos desenvolvem como seqüela a insuficiência cardíaca (IC), o que gera grande morbidade com piora da qualidade de vida destes pacientes e um enorme consumo de recursos do sistema de saúde público e privado. A probabilidade do IAM evoluir para um quadro de IC é maior nos

* Autor para correspondência. E-mail: erika.branco@ufra.edu.br.

pacientes não submetidos à terapia de reperfusão nas primeiras horas após o início dos sintomas, ou naqueles em que houve insucesso na tentativa de reperfusão miocárdica (Wu et al., 2002).

Por outro lado, pacientes com IAM submetidos à reperfusão miocárdica bem sucedida, que ocorre em 80% dos casos com o uso de trombolíticos e em mais de 90% com a angioplastia primária, apresentam mortalidade intra-hospitalar inferior a 5% (Henriques et al., 2003), evoluem com menor remodelamento cardíaco, maior fração de ejeção do ventrículo esquerdo e menos comumente cursam com IC (Gibson et al., 1999). Pacientes submetidos à terapia de reperfusão apresentam grau de salvamento miocárdico variável relacionado principalmente ao tempo de isquemia miocárdica e a efetividade da terapia de reperfusão (Christian et al., 1992; Hasche et al., 1995).

Desta forma, torna-se fundamental a busca de alternativas de cura para pacientes acometidos por esta patologia, que pode ter as mais variadas causas, tais como tabagismo, sedentarismo associado à ingestão de alimentos gordurosos e alcoolismo, porém, tanto as alternativas pré existentes e as que estão em desenvolvimento para este fim, requerem a criação de modelos experimentais que variam entre ligadura da artéria coronária esquerda (Eaton & Bulkley 1981; Hochman & Choo 1987; Bolli 1992; Capasso et al., 1992; Kim & Braunwald 1993; Raya et al., 1997; Zornoff et al., 1999; Morillas et al., 2004), embolização com microesferas de látex (Carlyle & Cohn 1983; Sabbah et al., 1991; Huang et al., 1997; Zietkiewicz et al., 1999; Jerzewski et al., 1999; Monreal et al., 2004), utilização de *coil* (Watanabe et al., 1998; Li et al., 2000) e de cateter balão (Farcot et al., 1978; Most et al., 1978; Gang et al., 1982; Branco et al., 2009).

Diante do exposto, este estudo objetivou a avaliação da técnica de oclusão coronariana através de infusão de esponja hemostática de gelatina, em suínos, com finalidade de desenvolver modelo experimental de infarto agudo do miocárdio.

MATERIAL E MÉTODOS

Todo procedimento esteve de acordo com as normas do Comitê de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, sob o processo de nº 750/2005.

Foram utilizados 2 suínos, fêmeas, com média de peso de 25Kg, saudáveis, os quais foram pré-medicados com Cloridrato de Ketamina na dose de 3mg/Kg e Midazolam na dose de 0,5mg/Kg, intramuscular, e para indução anestésica, foi utilizado Propofol, na dose de 5mg/Kg Intravenoso. A manutenção anestésica foi realizada com anestesia geral inalatória utilizando-se Isoflurano, com Ventilação Controlada à Volume (8ml/Kg) e PEEP = 5cm H₂O.

Em seguida acessou-se a artéria femoral esquerda com cateteres FL 3,5, R 3,5, 7F, AL e bainha 7F, até alcançar a porção distal da origem do 1º ramo diagonal da artéria coronária interventricular esquerda, infundido-se aproximadamente 10mg de esponja hemostática de gelatina (Gelfoam®), a qual foi cortada em pedaços de aproximadamente 1mm e dissolvida em solução de 0,3ml de heparina associada a 0,3ml de contraste iodado diluída em 20ml de soro fisiológico. Todo procedimento foi acompanhado sob orientação fluoroscópica.

Após um período de 21 dias, os animais foram eutanasiados e o coração coletado para análise macro e microscópica.

RESULTADOS

A infusão da esponja hemostática de gelatina resultou na interrupção do fluxo sanguíneo após a origem do primeiro ramo diagonal da artéria coronária interventricular esquerda (Figura 1).

Macroscopicamente, após o período de 21 dias de indução do IAM foi possível observar que um dos corações apresentou uma lesão pequena em parede ventricular esquerda, porém com muita aderência do pericárdio ao epicárdio e acentuada deposição de fibrina por toda superfície cardíaca (Figura 2).

O outro coração avaliado, não apresentou alterações em pericárdio, entretanto, a extensão da lesão foi maior e em nível apical (Figura 3).

Na microscopia de luz notamos uma grande extensão de necrose, marcada pela forte presença de tecido conjuntivo juntamente com a dissociação de miocárdio, porém, estas alterações marcaram também outras regiões cardíacas não pertencentes à área de infarto, onde foi possível notar deposição de colágeno (Figura3).

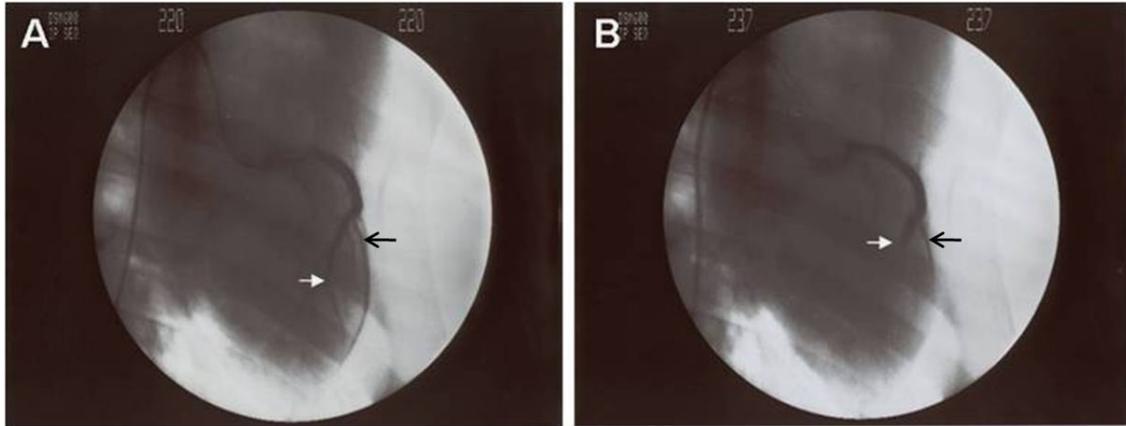


Figura 1. Imagem radiográfica por fluoroscopia do ramo interventricular esquerdo (paraconal) (seta branca) e primeiro ramo diagonal (seta preta), evidenciados com contraste (A). Fluxo interrompido por obstrução pós infusão da esponja hemostática de gelatina (B).

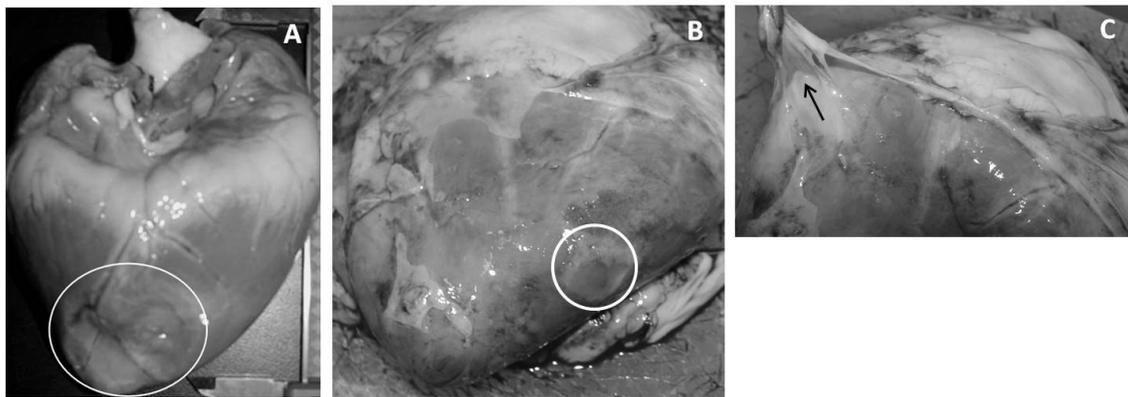


Figura 2. Coração de suíno induzido ao IAM pós infusão da esponja hemostática de gelatina. (A) - Região apical do coração com grande tecido cicatricial, provocado pelo processo isquêmico. (B) - Parede ventricular esquerda do coração de outro suíno, com lesão menor. (C) - Áreas de aderência do pericárdio.

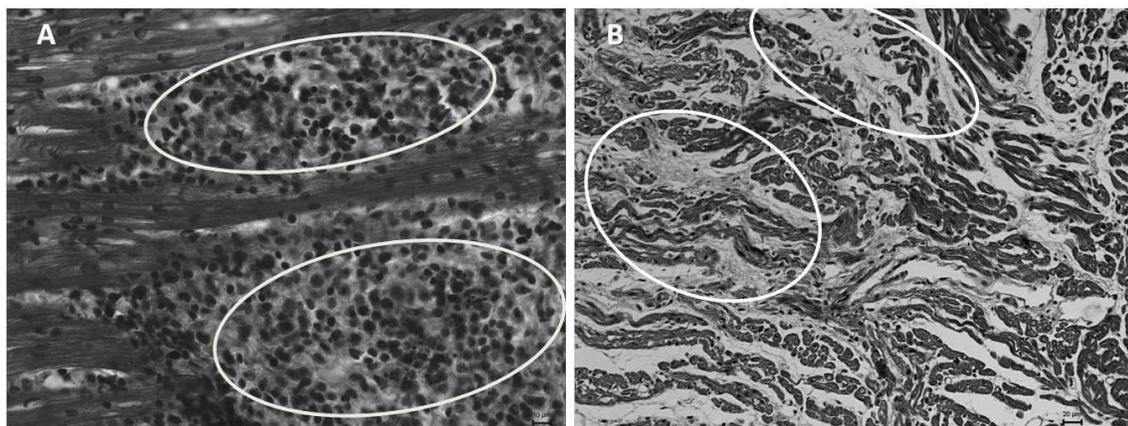


Figura 3. Fotomicrografia do coração de suíno induzido ao infarto agudo do miocárdio pela infusão da esponja hemostática de gelatina. Observar maior deposição de colágeno, grande quantidade de fibroblastos formando tecido cicatricial (círculo), bem como de células inflamatórias, núcleos picnóticos, cariórrexe (A) e dissolução das fibras cardíacas, com deposição de colágeno (círculo) bem como cariólise (B). Coloração: HE - Tamanho: 40X (A) e Coloração: Tricromo de Masson - Tamanho: 20X.

DISCUSSÃO

Uma das técnicas mais utilizadas para criação de modelo de infarto agudo é a ligadura de coronárias, porém, o aspecto de maior destaque neste método é o tamanho do infarto. Geralmente os resultados não são uniformes, com variação de 4% a 65% (Pfeffer et al., 1979). Isso se dá pela incapacidade de se ocluir a coronária exatamente no mesmo ponto em todos os animais (Li & Kloner, 1995; Moens et al., 2008), incapacidade esta, não atribuída a nossa metodologia de embolização, mas que gerou resultado semelhante, uma vez que as áreas de infarto foram distintas.

Pfeffer e colaboradores também consideram que o local da oclusão da artéria coronária é fator determinante da área de infarto e infere que quanto mais próxima à origem, maior o comprometimento da artéria septal e o tamanho da lesão, atingindo níveis maiores que 65%, o que leva a um índice de mortalidade de 100% (Pfeffer et al., 1979; Pfeffer et al., 1985), todavia, nossos achados mostram conflito com essa informação, pois apesar da obstrução em ambos os animais não ter sido próximo à origem da coronária, mas sim distalmente à origem do 1º ramo diagonal da artéria coronária interventricular esquerda o tamanho da lesão em um dos animais foi compatível com comprometimento da artéria septal, porém, não houve óbito em decorrência deste fato.

Os infartos promovidos por ligadura de coronária desencadeiam uma maior incidência em nível apical do que em base ventricular esquerda, o que confere a esta técnica certo grau de favorecimento aos estudos de tamanho de infarto (Spadaro et al., 1980; Oh et al., 1993) e tornam a técnica mais vantajosa já que de acordo com nosso resultados, um dos animais apresentou lesão ventricular direita.

No que tange os aspectos microscópicos, Capasso et al. (1992) mostraram que seis semanas após a ligadura da artéria coronária esquerda, os animais reperfundidos, tardiamente, apresentavam tamanho de infarto igual aos animais não reperfundidos, mostrando, porém, atenuação do processo remodulatório, com menor expansão do infarto. Este achado foi confirmado por estudos posteriores, realizados em ratos, cães e porcos (Hochman & Choo 1987; Kim & Braunwald 1993), bem como por Monreal et al. (2004) que observaram em ovelhas, remodelamento ventricular secundário da artéria coronária circunflexa esquerda durante a documentação de seu estudo por um período de dois anos após oclusão também da artéria coronária

esquerda através de embolização com microesferas de látex.

Assim como pudemos observar com o uso da esponja hemostática de gelatina, Watanabe et al. (1998) relatou que a utilização de *coils* induziu a formação de trombos resultando em infarto do miocárdio no ápice do ventrículo esquerdo, fato também propiciado pela utilização de cateter balão (Yoshimizu et al., 1986).

CONCLUSÃO

Diante de nossos achados macro e microscópicos concluímos que, aparentemente, a distribuição da esponja hemostática de gelatina ocorre de forma heterogênea, provavelmente por diferença de calibre de vasos, não se descartando por completo a hipótese de variação anatômica entre os indivíduos. Esta heterogeneidade por sua vez, não reproduz fidedignamente um modelo experimental adequado de IAM, porém, julgamos ser necessária a realização de novos ensaios para confirmação destes resultados.

REFERÊNCIAS

- Bolli R. 1992. Myocardial "Stunning" in man. *Circulation*. 86:1671-91.
- Branco E., Fioretto E.T., Cabral R., Palmera C.A.S., Gregores G.B., Stopiglia A.J., Maiorka P.C., Lemos P.A., Campos C., Takimura C., Ramires J.A.F. & Miglino M.A. 2009. *Homing* Miocárdico após Infusão Intrapericárdica de Células Mononucleares de Medula Óssea. *Arq. Bras. Cardiol.* 93(3):e50-e53.
- Capasso J.M., Li P. & Zhang X. 1992. Heterogeneity of ventricular remodeling after acute myocardial infarction in rats. *Am. J. Physiol.* 262:H486-95.
- Carlyle P.F. & Cohn J.N. 1983. A nonsurgical canine of chronic left ventricular myocardial dysfunction. *Am. J. Physiol.* 244:H769-74.
- Christian T.F., Schwartz R.S. & Gibbons R.J. 1992. Determinants of infarct size in reperfusion therapy for acute myocardial infarction. *Circulation* 86:81-90.
- Eaton L.W. & Bulkley B.H. 1981. Expansion of acute myocardial infarction: its relationship to infarct morphology in a canine model. *Circulation Res.* 49:80-8.
- Gang E.S., Bigger Jr J.T. & Livelli Jr F.D. 1982. A model of chronic ischemic arrhythmias: the relation between electrically inducible ventricular tachycardia, ventricular fibrillation threshold and myocardial infarct size. *Am. J. Cardiol.* 3(50):469-477.
- Gibson C.M., Murphy S.A., Rizzo M.J., Ryan K.A., Marble S.J., McCabe C.H., Cannon C.P., Hasche E.T., Fernandes C., Freedman S.B., Freedman S.B. & Jeremy R.W. 1995. Relation

- between ischemia time, infarct size, and left ventricular function in humans. *Circulation* 92:710-9.
- Henriques J.P., Zijlstra F. & Van't Hof A.W. 2003. Angiographic assessment of reperfusion in cute myocardial infarction by myocardial blush grade. *Circulation* 107:2115-2119.
- Hochman J.S. & Choo H. 1987. Limitation of myocardial infarct expansion by perfusion independent of myocardial salvage. *Circulation* 75:299-306.
- Huang Y., Kawaguchi O., Zeng B., Carrington R.A., Horam C.J., Yuasa T., Abdul-Hussein N. & Hunyor S.N. 1997. A stable ovine congestive heart failure model: a suitable substrate for left ventricular assist device assessment. *Asaio J.* 43:M408-M413.
- Jerzewski A., Steendijk P., Pattynama P.M.T., Leeuwenburgh B. P., Roos A. & Baan J. 1999. Right ventricular systolic function and ventricular interaction during acute embolization of the left anterior descending coronary artery in sheep. *Cardiovascular Res.* 43:86-95.
- Kim C.B. & Braunwald E. 1993. Potential benefits of late rerefusion of infarcted myocardium: the open artery hypothesis. *Circulation* 88:2426-2436.
- Li R., Weisel R., Mickle D., Jia Z., Kim E., Sakai T., Tomita S., Schwartz L., Iwanochko M. & Husain M. 2000. Autologous porcine heart cell transplantation improved heart function after a myocardial infarction. *J. Thoracic Cardiovascular Surg.* 119: 62-68.
- Li Y. & Kloner R.A. 1995. Is there a gender difference in infarct size and arrhythmias following experimental coronary occlusion and reperfusion? *J. Thromb. Thrombolysis* 2:221-225.
- Moens A.L., Champion H.C., Claeys M.J., Tavazzi B., Kaminski P., Wolin M., Borgonjon D.J., Nassauw L.V., Haile A., Zviman M., Bedja D., Wuyts F.L., Elsaesser R.S., Cos P., Gabrielson K.L., Lazzarino G., Paolucci N., Timmermans J.P., Vrints C.J. & Kass D.A. 2008. High-dose folic acid pretreatment blunts cardiac dysfunction during ischemia coupled to maintenance of high-energy phosphates and reduces postreperfusion injury. *Circulation* 117: 1810-1819.
- Monreal G., Gerhardt M.A., Kambara A., Abrishamchian A.R., Bauer J.A. & Goldstein A.H. 2004. Selective microembolization of the circumflex coronary artery in an ovine model: dilated, ischemic cardiomyopathy and left ventricular dysfunction. *J. Cardiol. Failure* 10:174-183.
- Morillas P., Hernández A., Pallarés V., Roldán F.J., Capdevilla C., Azorín I., Aguilar A., Portolés M. & Cosín J. 2004. Utilidad de la trimetazidina en la lesión por isquemia-reperusión. Estudio experimental en un modelo canino de arturdimiento miocárdico. *Ach. Cardiol. Mexican.* 74:262-270.
- Oh B.H., Ono S., Rockman H.R. & Ross Jr. J. 1993. Myocardial hypertrophy in the ischemic zone induced by exercise in rats after coronary reperfusion. *Circulation* 87:598-607.
- Pfeffer M.A., Pfeffer J.M., Fishbein M.C., Fletcher P.J., Spadaro J., Kloner R.A. & Braunwald E. 1979. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circulation Res.* 44:503-12.
- Pfeffer M.A., Pfeffer J.M., Steimberg B.S. & Finn P. 1985. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 72: 406-412.
- Raya T.E., Gaballa M., Anderson P. & Goldman S. 1997. Left ventricular function and remodeling after myocardial infarction in aging rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 273:2652-2658.
- Sabbah H.N., Stein P.D., Kono T., Gheorghide M., Levine T. B., Jafri S., Hawkins E. T. & Goldstein S. 1991. A canine model of chronic heart failure produced by multiple sequential coronary microembolizations. *Am. J. Physiol.* 260:H1379-H1384.
- Spadaro J., Fishbein M.C., Hare C., Pfeffer M.A. & Maroko P.R. 1980. Characterization of myocardial infarcts in the rat. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 104:179-183.
- Watanabe E, Smith DM, Sun J, Smart F.W., Delcarpio J.B., Roberts T.B., Van Meter Jr. C.H. & Claycom W.C. 1998. Effect of basic fibroblast growth factor on angiogenesis in the infarcted porcine heart. *Basic Res. Cardiol.* 93:30-37.
- Wu A.H., Parsons L. & Every N.R. 2002. Hospital outcomes in patients presenting with congestive heart failure complicating acute myocardial infarction: a report from the Second National Registry of Myocardial Infarction (NRM1-2). *J. Am. Col. Cardiol.* 40:1389-1394.
- Yoshimizu T., Kai Y., Ura K., Yamada T., Takeoka K. & Sakurai I. 1986. Experimental study on size-limitation of myocardial infarct in swine produced by a coronary balloon-catheterization. I preliminary report; morphometry of infarct size. *Acta Pathol. Japan.* 5(36):703-713.
- Zietkiewicz M., Perek B., Meys B., Mesotten L., Dispersyn G., Nishimura Y. & Flameng W. 1999. Chronic heart failure model induced by coronary embolization in sheep. *Int. J. Art. Organs* 22:499-504.
- Zornoff L.A.M., Matsubara B.B, Matsubara L.S, Paiva S.A.R., Tornero M.T.T. & Spadaro J. 1999. Efeito do lisinopril na isquemia experimental em ratos. Influência do tamanho do infarto. *Arq. Bras. Cardiol.* 73:359-365.