

Oclusão temporária da artéria cerebral média como modelo experimental de isquemia e reperfusão cerebral em ratas wistar

Palavras chave: acidente vascular cerebral; Lesão encefálica; obliteração endovascular

Fernanda Figueiredo MENDES^{1*}; Eugênio Gonçalves de ARAÚJO²; Danilo Ferreira RODRIGUES³; Taís Andrade DIAS¹; Juliana Carvalho de Almeida BORGES¹; Ashbel Schneider da SILVA⁴.

1. Aluna de Mestrado em Ciência Animal do Programa de pós-graduação da Escola Veterinária e Zootecnia/UFG. * nanda_vt@yahoo.com.br
2. Professor do Departamento de Patologia Animal da Escola Veterinária e Zootecnia/UFG.
3. Aluno de Doutorado em Ciência Animal do Programa de pós-graduação da Escola Veterinária e Zootecnia/UFG.
4. Aluno de Graduação em Medicina Veterinária Aluna de Mestrado em Ciência Animal do Programa de pós-graduação da Escola Veterinária e Zootecnia/UFG.

Órgão financiador: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Introdução

As doenças vasculares cerebrais são importantes causas de incapacidade física e morte em humanos no mundo. Representam a primeira causa de mortalidade no Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, e tem importantes índices de morbidade (BRASIL, 2005). Aproximadamente 85 a 90% destas enfermidades ocorrem por mecanismos isquêmicos que provocam variados graus de lesões no sistema nervoso central e levam a consequências clínicas severas para os pacientes (DIAS et al., 2000; MUNIZ et al., 2004).

As isquemias cerebrais focais possuem enorme importância clínica e experimental, pois estão entre as lesões encefálicas isquêmicas mais frequentes. Dentre os chamados acidentes vasculares cerebrais, a obliteração da artéria cerebral média (ACM) é uma das formas mais prevalente, e corresponde a aproximadamente 60% das isquemias cerebrais em humanos (MODO et al. 2000; HOSSMANN, 2008).

É cada vez mais importante a fundamentação clínica e experimental que avalia as bases celulares e moleculares do funcionamento do cérebro, além de suas respostas a variados tipos de lesões (PIMENTEL et al., 2009). Assim, torna-se

importante criar modelos experimentais simples e reprodutíveis de isquemia e reperfusão cerebral, no intuito de elucidar a fisiopatologia deste tipo de alteração e testar tratamentos terapêuticos que possam atenuar as lesões decorrentes das injúrias (TARDINI & YOSHIDA, 2003).

Atualmente, a oclusão da artéria cerebral média por meio da passagem de um fio cirúrgico obliterador intraluminal na carótida interna é bastante difundida por ser mais facilmente aplicável diante de técnicas mais complicadas de acesso, como por exemplo a craniotomia (TAPIA & TORRES, 2004).

O objetivo dos autores com este trabalho é apresentar uma abordagem cirúrgica de oclusão da artéria cerebral média de maior facilidade e reprodutibilidade em comparação a técnica padronizada.

Material e Métodos

Foram utilizadas quatro ratas da linhagem wistar, com peso médio de 300g provenientes do Biotério Central/UFG. Os animais foram submetidos a um período de aclimação de 15 dias com água e alimentação específica para a espécie. No dia do procedimento cirúrgico os animais receberam 10mg/kg de cloridrato de xilazina como medicação pré-anestésica, procedendo à indução anestésica em câmara com isofluorano. Posteriormente foi realizada a tricotomia da região ventral do pescoço e manutenção anestésica com isofluorano em fluxo diluente de 0,3L/min de O₂ em circuito sem reinalação de gases por meio da intubação orotraqueal com cateter 18G. Em seguida foi realizada a antisepsia da região ventral do pescoço com idopolivipirrolidona e anestesia local com lidocaína a 2% sem vasoconstritor. Após a constatação da perda da sensibilidade dolorosa, pelo pinçamento da cauda com pinça, foi iniciado o procedimento cirúrgico.

Foi realizada uma incisão paramediana de aproximadamente 2cm no lado esquerdo a partir do ramo da mandíbula, seguida da divulsão do tecido subcutâneo com hastes plásticas flexíveis com extremidades de algodão, e afastamento mediano da tireóide e jugular para a visualização dos músculos digástrico, esternomastóideo e esterno-hióideo com auxílio de um blefarostato. Posteriormente foi realizada a divulsão no ponto de união entre esses músculos para visualização da carótida comum esquerda e ramos externo e interno da mesma.

Após este procedimento isolou-se a carótida comum do nervo vago e realizou-se a ligadura temporária da mesma com fio de seda 2-0 na porção mais

caudal, seguida da hemostasia preventiva e temporária, por meio de sua compressão na porção mais cranial com hastes plásticas flexíveis com extremidades de algodão. Posteriormente foi introduzido 0,5cm de um cateter 24G na carótida comum no sentido caudo-cranial e inserção do fio de polipropileno 0 através do cateter. Após a penetração de 1cm do fio obliterador na carótida comum, o cateter foi removido, sendo o fio guiado lateralmente em direção à carótida interna. A partir do ponto de bifurcação da carótida comum em carótidas interna e externa o fio foi introduzido 2cm. Após este procedimento foi aguardado o período 30 minutos para promoção da lesão isquêmica por meio da obliteração da origem da artéria cerebral média. Transcorridos os 30 minutos, o fio obliterador foi removido, e o orifício de punção da carótida comum foi ocluído com adesivo a base de alfacianoacrilato e polimetacrilato, seguida da remoção da ligadura da carótida comum para liberação do fluxo sanguíneo e reperfusão cerebral, dermorráfia com fio de polipropileno 4-0 e limpeza da ferida cirúrgica com iodopolivinilpirrolidona.

Foi aguardado o completo retorno anestésico dos animais para avaliação e descrição dos sinais clínicos decorrentes das lesões de isquemia de 30 minutos e reperfusão de 24 horas.

Resultados e Discussão

O retorno anestésico completo dos pacientes durou em torno de 90 minutos e estes apresentaram poucos sinais clínicos de lesões neurológicas, caracterizados por alterações comportamentais. Os animais foram avaliados clinicamente nas primeiras três horas de reperfusão e 24 horas após o procedimento como descrito por GERRIETS et al. (2004).

O animal número um apresentou nas primeiras três horas de reperfusão cerebral tremores intermitentes no membro anterior direito, desvio postural para a esquerda, rotação aberta e inconstante para o lado direito, letargia, posicionamento da cauda em forma de anzol com tremores, além de blefaroptose do lado direito. Após 24 horas os sinais clínicos permaneceram, porém em menor grau. As pacientes dois e três apresentaram sinais clínicos bastante similares, porém em menor grau e apenas nas primeiras três horas, pois 24 horas após o procedimento as mesmas só apresentavam letargia.

A paciente número quatro durante as primeiras horas apresentou nistagmo, blefaroptose, mioclonias faciais e os sinais clínicos posturais e

comportamentais já mencionados anteriormente no lado direito. Houve melhora do quadro com 24 horas, porém sem o desaparecimento dos sinais clínicos. CALLONI et al. (2010) realizaram avaliação clínica de animais submetidos a técnica de oclusão da artéria média cerebral por monofilamento endovascular, e concluíram que esta não seria suficiente para confirmar ou descartar o infarto cerebral, porém traria informações importantes relacionadas com presença de lesão nas primeiras três horas de reperfusão.

Os animais deste estudo foram submetidos a apenas trinta minutos de isquemia por questões de aperfeiçoamento da técnica, o que pode ter ocasionado o baixo grau de déficit neurológico encontrado neste trabalho, pois segundo CALLONI et al. (2010) o tempo mínimo necessário para se estabelecer uma lesão importante e com características clínicas palpáveis e quantificáveis é de 60 minutos.

Outro fator relevante pode ter sido a não oclusão completa da artéria cerebral média, pois segundo GERRIETS et al. (2004) e TAPIA & TORRES (2004) o fio deve possuir a extremidade envolta por algodão, pois esta promoveria o aumento do calibre da extremidade do fio por capilaridade, resultando na lesão de isquemia por oclusão da origem do vaso em questão, caso contrário, o fluxo mesmo fraco, permaneceria e impossibilitaria o resultado.

O fio de polipropileno 0 foi escolhido por apresentar firmeza e sustentação, o que impediu que este se dobrasse no lúmen da artéria, proporcionando maior facilidade de manipulação. Além disso, acreditava-se que o calibre 0 seria suficiente para a obstrução da origem da artéria cerebral média. ÁBRAHÁM et al. (2002) testaram os fios de nylon e polyamide calibre 3-0 e 4-0 com uma ponta abaulada em algodão, e deram os mesmos motivos descritos acima para a utilização destes, e concluíram que em ambos havia uma taxa de 20 a 25% de animais que não apresentaram isquemia, sendo necessário maior aperfeiçoamento da técnica para obtenção de resultados mais satisfatórios. Os calibres dos fios citados foram testados neste trabalho, porém traziam dificuldades de manipulação, pois dobravam dentro do vaso e por muitas vezes dificultavam a introdução pela artéria devido a elevada maleabilidade. A extremidade descrita pelos autores possuía o mesmo calibre do fio de polipropileno 0, o que possibilitou crer que o fio de escolha para o trabalho não demandaria a necessidade de montagem de uma ponta como o citado nos trabalhos.

Para reduzir o tempo cirúrgico e produzir menores graus de lesões traumáticas nos vasos envolvidos na técnica foi utilizado um cateter 24G que serviu como guia para a entrada e posicionamento do fio dentro do vaso, além disso a utilização de pinças clamp vasculares provavelmente teriam reduzido ainda mais o grau de lesão traumática nos vasos ao invés das ligaduras.

Conclusões

A técnica cirúrgica apresentada mostrou-se reprodutível, porém necessita de padronização do tempo de isquemia para no mínimo 60 minutos e realização de exames histológico que comprovem as lesões de isquemia e reperfusão.

Referências Bibliográficas

1. ÁBRAHÁM, H.; SOMOGYVÁRI-VIGH, A.; MADERDRUT, J.L.; VIGH, S.; ARIMURA, A. Filament size influences temperature changes and brain damage following middle cerebral artery occlusion in rats. **Experimental Brain Research**, Berlin, n. 142, p. 131–138, 2002.
2. BRASIL. **Cadernos de informação de Saúde** [on line]. 2005. Ministério da Saúde, Datasus. Brasília. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/tabdata/cadernos/cadernosmap.htm>. Acesso em: 10 abr. 2010.
3. CALLONI, R.L.; WINKLER, B.C.; RICCIN, G., POLETTI, M.G.; HOMERO, W.M.; SERAFINI, E.P.; CORLETA, O.C. Transient middle cerebral artery occlusion in rats as an experimental model of brain. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.25, n. 5, p. 428-433, 2010.
4. DIAS, L. A. A.; COLLI, B. O.; NETTO, J. C.; LACHAT, J. J. Avaliação da isquemia cerebral focal induzida pela oclusão da artéria cerebral média e a ação neuroprotetora do cetoprofeno em ratos. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, São Paulo, v.58, n.4, p.1047-1054, 2000
5. GERRIETS, T.; STOLZ, E., WALBERER, M., MÜLLER, C., ROTTGER, C., KLUGE, A., KAPS, M., FISCHER, M., BACHMANN, G. Complications and pitfalls in rat stroke models for middle cerebral artery occlusion: a comparison between the suture and macro sphere model using magnetic resonance angiography. **Stroke**, Dallas, n. 35, p. 2372 – 2377, 2004.
6. HOSSMANN, K.A. Cerebral ischemia: Models, methods and outcomes. **Neuropharmacology**, New York, n. 55, p. 257-270, 2008
7. MODO, M.; STROEMER, R.P.; TANG, E.; VEIZOVIC, T.; SOWNISKI, P.; HODGES H.P. Neurological sequelae and long-term behavioural assessment of rats with transient middle cerebral artery occlusion. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v.1, n. 104, p. 99-109, 2000.
8. MUNIZ, L. R. F.; FARIA, M. H. G.; VASCONCELOS, P. R. L. Avaliação metabólica das lesões de isquemia e reperfusão cerebrais após oclusão bilateral das artérias carótidas comuns: estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n.5, p.529-534, 2004.
9. PIMENTEL, V.C.; PINHEIRO, F.V.; MORETTO, M.B. Mecanismos do dano cerebral na hipóxia e isquemia em recém-nascidos: minirevisão. **Ciência em Movimento**. Porto Alegre, n. 21, p. 45 – 50, 2009.
10. TAPIA, P.G.P.; DIAZ, A.H.; TORRES, J.L. Oclusión endovascular permanente de la arteria cerebral media en ratas Wistar: descripción del abordaje através de la arteria carótida interna. **Revista de Neurología**, Barcelona, v.11, n. 39, p. 1011-1016, 2004.
11. TARDINI, D.M.S. ; YOSHIDA, W.B. Lesões cerebrais decorrentes de isquemia e reperfusão na cirurgia de endarterectomia de carótida. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 2, n.2, p. 119 -128, 2003.