

INDUÇÃO DA MIOCARDIOPATIA ISQUÊMICA EM MODELO EXPERIMENTAL MINI PORCO*

Jussara Peters Scheffer¹⁺, André Lacerda de Abreu Oliveira², Melissa Markoski³, Fernanda Antunes², Fabiane Azeredo Atallah⁴, Guilherme Alexandre Soares Monteiro¹, Claudio Baptista de Carvalho⁵ e Renato Abdala Karam Kalil³

ABSTRACT. Scheffer J.P., Oliveira A.L.A., Markoski M., Antunes F., Atallah F.A., Monteiro G.A.S., Carvalho C.B. & Kalil R.A.K. [**Induction of ischemic cardiomyopathy in experimental model mini pig**]. Indução da miocardiopatia isquêmica em modelo experimental mini porco. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(Supl. 1):45-48, 2013. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, CCTA, Sala 207-A, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brasil. Email: jussarapeters@yahoo.com.br

The progressive increase in the prevalence and incidence of cardiovascular disease is a public health problem of increasing interest, and the acute myocardial infarction the main condition of this group of diseases to be studied. Preclinical studies are most often performed with rats or mice, and only occasionally with larger animals like dog, in recent decades was developed the mini pig, as an alternative to pre-clinical models, due to its similarity with to the human species. With this research, we seek to up reviewing studies to demonstrate that the experimental mini pig model is an ideal model for model for preclinical studies in cardiology field. We used fifteen mini pigs of Minipig Br1 lineage, who have undergone to a ischemic cardiomyopathy model, by occlusion of the major diagonal coronary paraconal the efficacy of occlusion in the formation akinetic area was evaluated by echocardiographic examination, performed after surgery, where images were compared with the test performed before occlusion. The experimental mini pig model was adequate for performing preclinical studies, and the coronary occlusion technique, satisfactory to induce ischemic cardiomyopathy.

KEY WORDS. Cardiomyopathy, Minipig, infarction.

RESUMO. O aumento progressivo na prevalência e incidência das doenças cardiovasculares representa um problema de saúde pública de interesse crescente, sendo o infarto agudo do miocárdio a principal afecção deste conjunto de doenças a serem estudadas. Estudos pré-clínicos são mais frequentemente realizados com ratos ou camundongos, e apenas eventualmente com animais de maior porte como o

cão, nas últimas décadas, foi desenvolvido o mini porco, como alternativa para modelos pré-clínicos, devido a sua semelhança com a espécie humana. Com esta pesquisa, busca-se revisar estudos, a fim de demonstrar que o modelo experimental mini porco é um modelo ideal para estudos pré-clínicos na área da cardiologia. Foram utilizados quinze mini porcos da linhagem Minipig Br1, que foram submetidos a

*Recebido em 13 de abril de 2013.

Aceito para publicação em 30 de setembro de 2013.

¹Médica-veterinária, MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), CCTA, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Avenida Alberto Lamego, 2000, CCTA, Sala 207-A, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brasil.

⁺Autora para correspondência E-mail: jussarapeters@yahoo.com.br

²Médico-veterinário, DSc. CCTA, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602. E-mail: lacerdavet@uol.com.br

³Médico, DSc. Instituto de Cardiologia, Fundação Universitária de Cardiologia, Av. Princesa Isabel, 370, Santana, Porto Alegre, RS 90620-000, Brasil. E-mail: melmarkoski@gmail.com

⁴Médico-veterinário, MSc. PPGCA, CCTA, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602. E-mail: fabiane-vet@hotmail.com

⁵Médico-veterinário, DMV, CCTA, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602. E-mail: claudiobatistadecarvalho@gmail.com

um modelo de miocardiopatia isquêmica, através da oclusão do ramo diagonal da coronária paraconal, a eficácia da oclusão na formação da área acinética foi avaliada através de exame ecocardiográfico realizado após o procedimento cirúrgico, onde as imagens foram comparadas com o exame realizado antes da oclusão. O modelo experimental mini porco mostrou-se adequado para a realização de estudos pré clínicos e a técnica de oclusão da coronária satisfatória para induzir a miocardiopatia isquêmica.

PALAVRAS-CHAVE. Miocardiopatia, Minipig, infarto.

INTRODUÇÃO

O aumento progressivo na prevalência e incidência das doenças cardiovasculares representa um problema de saúde pública de interesse crescente. A área de doenças cardiovasculares é hoje a mais estudada quanto ao potencial terapêutico das células tronco, principalmente em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Sendo o infarto agudo do miocárdio a principal afecção deste conjunto de doenças a serem estudadas com o objetivo de se obter resolução (Honold et al. 2004, Leite & Dohmann 2004). Apesar do avanço no tratamento farmacológico, intervencionista e cirúrgico, ao redor de 12% dos pacientes com esta doença não são passíveis de revascularização por técnicas convencionais. Esta impossibilidade determina prejuízo sintomático e alterações que, se mantidas de uma forma crônica, evoluem para perda de miocárdio funcional e possível evolução para insuficiência cardíaca.

Desta forma, estudos pré clínicos na área da cardiologia têm sido realizados, utilizando diversos modelos experimentais (Honold et al. 2004, Bocchi & Ferreira 2005, Guarita-Souza et al. 2005). Apesar dos inúmeros casos já publicados demonstrando a eficácia das novas terapia nas doenças cardiovasculares, muitas são as perguntas a serem respondidas antes que possa ser plenamente compreendida, só então, aceita ou descartada como opções de tratamento, sendo importante a realização de novas pesquisas (Kalil & Sant'Anna 2004, Angell & Oliveira 2007, Zuk 2010).

Estudos pré-clínicos, onde a miocardiopatia isquêmica é induzida através da ligadura de um ramo da coronária, mimetizando um quadro de infarto agudo do miocárdio, são mais frequentemente realizados com ratos ou camundongos, e apenas eventualmente com animais de maior porte como o cão (Kalil et al. 2002). Nas últimas décadas, foi desenvolvido o mini porco, como alternativa para modelos

pré-clínicos, devido a sua semelhança com a bioquímica, a morfologia e a fisiologia cardiovascular com a espécie humana, mimetizar situações pato-fisiológicas humanas, além da facilidade de manutenção já que é um animal de produção (Mariano 2003).

Com esta pesquisa, busca-se estabelecer um modelo experimental em mini porco para a realização de estudos pré-clínicos de terapia celular na revascularização do miocárdio na área da cardiologia em animais com isquemia cardíaca induzida cirurgicamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados quinze mini porcos da linhagem Minipig Br1 (Mariano 2003), produzidos no Brasil pela empresa Minipig Pesquisa e Desenvolvimento. Os animais foram mantidos na Unidade de Experimentação Animal da Universidade Estadual do Norte Fluminense, com as condições de alimentação, iluminação e higiene preconizadas pelos produtores, e utilizados quando adultos com peso entre 60 e 70 kg.

Os animais foram submetidos a um modelo de miocardiopatia isquêmica através da oclusão do ramo diagonal da coronária paraconal (no ser humano designada de coronária descendente anterior). Por meio do exame ecocardiográfico realizado no período pré operatório e pós operatório imediato, foi possível comparar a estrutura cardíaca antes e após oclusão da coronária, avaliando se houve o surgimento de uma área isquêmica após a oclusão da coronária, essa área é chamada de área acinética. Quando o surgimento desta área é constatado no exame, conclui-se que a indução do infarto foi eficaz.

Cada animal recebeu como medicação pré anestésica o cloridrato de acepromazina, na dose de 0,2mg/kg⁻¹, pela via intramuscular. Vinte minutos após a administração da medicação pré anestésica, foi realizada a cateterização da veia auricular pela introdução de cateter calibre 20 Gauge (24G) (BD-Insyte-Becton Dickson ind. Cirurgicas -11 Ltda), após antisepsia da região com álcool.

Por esta via procedeu-se a indução da anestesia com a combinação propofol/tiopental sódico na proporção de 1:1, homogeneizados em seringa de 20 ml, administrados sobre a forma de dose efeito. Os animais permaneceram sob anestesia endovenosa com propofol + tiopental sódico durante o exame de ecocardiografia pré cirúrgico. Após o exame o animal foi colocado em decúbito dorsal, com auxílio de um laringoscópio, realizou-se a entubação traqueal. Ao tubo endotraqueal foi acoplado o sistema fechado de anestesia inalatória, por onde o animal recebeu o anestésico isoflurano com oxigênio. Permaneceram sob anestesia inalatório até o final do procedimento cirúrgico.

A indução da miocardiopatia isquemia procedeu-se da seguinte maneira, inicialmente foi realizada a incisão de pele, divulsão das camadas musculares. Com auxílio de um afastador de Finochietto (Figura 1), as costelas foram afastadas, permitindo a visualização do coração. Em seguida foi realizada pericardiotomia, permitindo acesso ao ramo diagonal da coronária paraconal, a qual foi ocluída utilizando fio de sutura prolene 6-0 (Figuras 2 e 3).

O fechamento da cavidade torácica foi feito com pontos de sutura simples descontínuo com nylon 0, englobando a costela anterior e posterior ao local de abertura do tórax. Em seguida

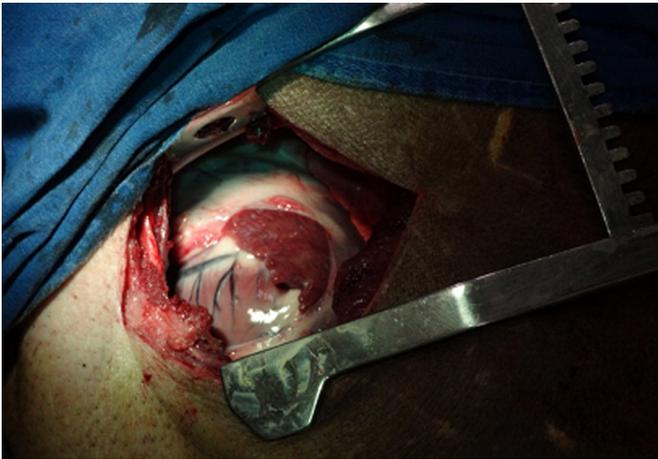


Figura 1. Coração de mini porco. Visualização do coração de mini porco após abertura do tórax e afastamento das costelas com auxílio de afastador de Finochetto. Setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário/UENF, 2012.

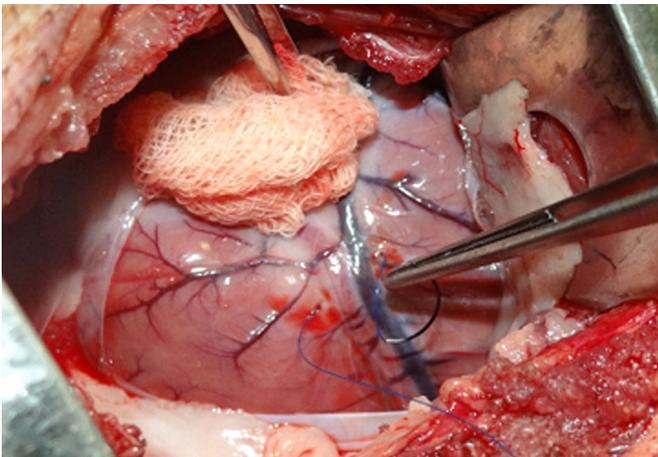


Figura 2. Coração de mini porco. Visualização do ramo diagonal principal da coronária descendente anterior sendo ocluída por ligadura com fio de sutura prolene 6-0. Setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário/UENF, 2012.

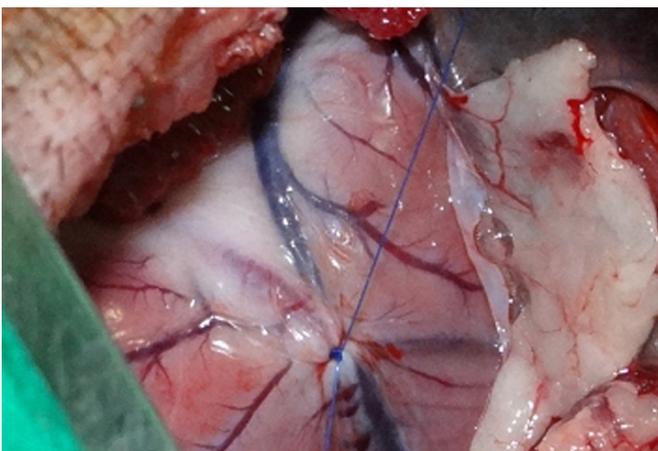


Figura 3. Coração de mini porco. Visualização do ramo diagonal principal da coronária descendente anterior após oclusão. Setor de Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário/UENF, 2012.

suturou-se as camadas musculares e por ultimo a sutura de pele com padrão de sutura simples descontínuo com nylon 2-0.

Após o procedimento cirúrgico os animais foram submetidos ao segundo exame ecocardiográfico para confirmar que a oclusão da coronária foi eficaz em produzir o infarto. Os animais foram mantidos em criatório apropriado (Figura 4) durante trinta dias, após este período repetiu-se o exame ecocardiográfico, avaliando a eficácia do tratamento instituído.



Figura 4. Mini porcos. Animais em recuperação anestésica, após procedimento cirúrgico, em pocilga apropriada. Setor de experimentação animal do Hospital veterinário/UENF, 2012.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização do modelo experimental mini porco mostrou-se adequada, sendo constatada facilidade de manejo, segurança e eficácia nos procedimentos realizados. Esse modelo experimental foi capaz de reproduzir fidedignamente o infarto agudo do miocárdio após a oclusão da coronária, fato esse que se justifica pela sua semelhança com a bioquímica, morfologia e a fisiologia cardiovascular com a espécie humana (Mariano 2003). Mariano (2003) e Vulliet et al. (2004) apontaram a importância do uso de modelos experimentais bem definidos e que possam mimetizar situações pato-fisiológicas humanas. Sendo o mini porco desenvolvido no Brasil (Mariano, 2003) e criado especificamente para a pesquisa. Esse modelo vem sendo utilizado em varias linhas de pesquisa como cardíaca, renal, gástrica endócrina, além de lesões ósseas e cutâneas, com enorme sucesso. Schuleri et al. (2008) utilizaram esse mesmo modelo experimental em sua pesquisa, alcançando resultados promissores em relação a terapia celular.

A área acinética é uma área com deficiência de contratilidade do músculo cardíaco, decorrente da isquemia causado pela oclusão de uma coronária. Essa área é indicativa de severidade do evento is-

quêmico, ou seja, quanto mais severo a isquemia sofrida pelo miocárdio maior será a área acinética, sendo avaliada através do exame de ecocardiografia.

A ligadura do ramo diagonal da coronária paraconal do coração do mini porco foi capaz de produzir uma eficaz isquemia do miocárdio, gerando uma área de acinesia, evidenciada em todos os animais tanto do grupo controle quanto do grupo tratado através do exame de ecocardiografia realizado no período pós operatório imediato, essa mesma área não havia sido visualizada no exame realizado no período pré operatório, o que comprova que o infarto foi provocado com sucesso, esse mesmo sucesso da técnica foi relatado pelo pesquisador Schuleri et al (2008). Souza et al. (2004) e Guarita-Souza et al. (2005) utilizaram a mesma técnica de ligadura da coronária com o intuito de induzir o infarto, porém no modelo experimental rato Wistar, obtendo sucesso no procedimento.

CONCLUSÃO

O modelo experimental mini porco é adequado para realização de estudos pré clínicos na área da cardiologia. A oclusão do ramo diagonal da coronária paraconal induziu de maneira eficaz a miocardiopatia isquêmica, promovendo o surgimento de uma área acinética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Angeli F.S. & Oliveira E.M. Terapia celular no tratamento do infarto agudo do miocárdio. *Rev. Bras. Cardiol. Invas.*, 15:145-150, 2007.

Bocchi E.A. & Ferreira S.M.A. Células tronco no tratamento das doenças cardiovasculares. *Rev. Soc. Cardiol. Rio Grande do Sul*, 13:1-9, 2005.

Guarita-Souza L.C., Carvalho K.A.T., Rebelatto C., Senegaglia A., Hansen P., Furuta M., Miyague N., Francisco J.C., Olandoski M., Woitowicz V., Simeoni R., Faria-Neto J. R. & Brofman P. A comparação entre o transplante de células tronco monucleares e mesenquimais no infarto do miocárdio. *Braz. J. Cardiovasc. Surg.*, 20:270-278, 2005.

Honold J., Assmus B., Lehman R., Zeiher A.M. & Dimmeler S. Stem cell therapy of cardiac disease: an update. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 19:1673-1677, 2004.

Kalil R.A., Teixeira L.A., Mastalir E.T., Moreno P., Fricke C.H. & Nardi N.B. Experimental model of gene transfection in healthy canine myocardium: perspectives of gene therapy for ischemic heart disease. *Arq. Bras. Cardiol.*, 79:223-232, 2002.

Kalil R.A.K. & Sant'Anna R.T. Terapia gênica aplicada às doenças cardiovasculares. *Rev. Soc. Cardiol. Rio Grande do Sul*, 13:1-7, 2004.

Leite R.S. & Dohmann H.F. Uso das células tronco aplicadas à cardiologia. *Rev. Soc. Cardiol. Rio Grande do Sul*, 13:1-5, 2004.

Mariano M. Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental. O minipig br1. *Acta Cirurg. Bras.*, 18:387-391, 2003.

Schuleri K.H., Amado L.C., Boyle A.J., Centola M., Saliaris A.P. & Gutman M.R. Early improvement in cardiac tissue perfusion due to mesenchymal stem cells. *Am. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol.*, 294:2002-2011, 2008.

Souza L.C.G., Carvalho K.A.T., Rebelatto C., Senegaglia A., Furuta M., Miyague N., Hansen P., Francisco J.C. & Brofman P.R.S. O transplante em conjunto de células mioblásticas esqueléticas e mesenquimais (cocultivadas) na disfunção ventricular pós-infarto do miocárdio. *Arq. Bras. Cardiol.*, 83:288-293, 2004.

Vulliet P.R., Greeley M., Halloran S.M., MacDonald K.A. & Kittleston M. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet*, 363:783-784, 2004.

Zuk P.A. The adipose-derived stem cell: looking back and looking ahead. *Mol. Biol. Cells*, 21:1783-1787, 2010.