

ATEROSCLEROSE EXPERIMENTAL. NOVO MÉTODO DE ESTUDO PARA A AVALIAÇÃO DAS LESÕES ATROSCLERÓTICAS EXPERIMENTAIS PRODUZIDAS EM COELHOS. O USO DA ANGIOGRAFIA DE CONTRASTE⁺

DAOIZ MENDOZA AMARAL*

JAIME BECH NAPPI**

MARIA NOEL COCH***

LUIZ FERNANDO LIMA ALBERNAZ****

MÁRCIA E. VIEIRA****

RESUMO

Os autores realizam um estudo, para a avaliação das lesões ateroscleróticas produzidas experimentalmente em coelhos, baseado no estudo de arteriografias de contraste na circulação do sistema aórtico, empregando uma equipe radiográfica das utilizadas no Método da Microangiografia. Com este procedimento, consegue-se demonstrar em animais ateroscleróticos, o quanto estão afetados os diversos setores arteriais dependentes da aorta. Foram utilizados para este fim, 12 coelhos Nova Zelândia com 6 meses de idade e cujos pesos oscilaram entre 3kg e 4kg. 6 dos mesmos foram alimentados com uma dieta aterogênica, ingerindo 350mg de colesterol por dia, misturado com banha de porco. Durante as experiências, fizeram-se periodicamente controle de peso e colesterolemias. Os coelhos foram sacrificados periodicamente a partir dos 60 dias de iniciadas as experiências. Após serem sacrificados, se injetaram soluções de contraste no sistema aórtico, sendo seguidas as mesmas, por estudos microangiográficos. Os mesmos permitiram demonstrar a presença de lesões ateroscleróticas e obstruções vasculares em diversas artérias do sistema aórtico, especialmente nas artérias coronárias e intercostais.

PALAVRAS-CHAVE: Aterosclerose experimental; métodos de estudos microangiográficos.

ABSTRACT

The authors made a study, aiming at the evaluation of atherosclerotic lesions produced experimentally in rabbits, based on the study of contrast arteriographies in the circulation of the aortic system. A radiographic

-
- + Trabalho realizado no Departamento de Patologia (FURG) com apoio financeiro do CNPq.
 * Professor Titular — Dep. de Patologia
 ** Professor Titular — Dep. Medicina Interna
 *** Professora Adjunto — Dep. de Patologia
 **** Estagiários do Dep. de Patologia

equipment was used, as described in the Method of Microradiography. This procedure can show how much the aortic-dependent arterial sectors affected. Twelve six-month-aged, 3-4 kg weighted rabbits were used in the experience. Six of them were fed with an atherogenic diet (350mg cholesterol mixed with porky grease). During the experiences, weight and cholesterol were controlled. The rabbits were sacrificed periodically 60 days after beginning the experiences. After sacrificing them, contrast solutions were injected into the aortic system, and microangiographic studies were made. These studies showed the presence of atherosclerotic lesions and vascular obstructions in several arteries of the aortic system, specially in the coronary and intercostal arteries.

INTRODUÇÃO

Os métodos de estudo utilizados até o momento atual, por diversos pesquisadores, para avaliar a intensidade das lesões ateroscleróticas experimentais, baseiam-se na apreciação visual das ditas lesões, localizadas na superfície interna das artérias atingidas pelos processos aterogênicos.¹

A vinda do método da microangiografia¹ nos laboratórios de pesquisa, abriu um novo panorama de estudo da circulação arterial, em diversos órgãos, conseguindo-se assim, um maior conhecimento das irrigações vasculares, em diversas vísceras e conseqüentemente, uma maior compreensão de sua fisiologia.

A técnica, como já foi destacada por Barclay¹, tem permitido entre outras coisas, um maior conhecimento da presença de anastomoses arteriais e a compreensão dos princípios fisiológicos das circulações colaterais.

O aperfeiçoamento da técnica de Microarteriografia, introduzindo entre outras vantagens, o uso de aparelho de raio X, especialmente construídos para a produção de irradiações de raios "molles", tem permitido a obtenção de imagens radiográficas, mais nítidas e precisas.

Os ótimos resultados obtidos por esta técnica, no estudo de circulações arteriais normais, nos incentivaram em aplicá-la em nossos trabalhos sobre aterosclerose experimental, baseado nas imagens obtidas dos vasos arteriais injetados com uma substância de contraste na circulação arterial aórtica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 12 coelhos machos de raça Nova Zelândia, cujo peso oscilava entre 2500g e 3000g, sendo suas idades entre oito e dez meses.

Os animais foram divididos em 2 grupos:

Grupo A — 6 coelhos alimentados com 160g de uma dieta aterogênica constituída por ração de "Purina", misturada com colesterol e gordura de porco, calculando-se uma ingestão de 1200mg de colesterol diário, sendo a água "ad libitum".

Grupo B — 6 coelhos alimentados com 160g diários da mesma ração e água "ad libitum".

Durante as experiências, foram feitos estudos periódicos das colesterolemias,

(ver quadro I) de todos os animais, assim como o controle do peso nos mesmos.

QUADRO Nº 1

COELHO Nº	DATA	COL. mg%	COL. HDL mg%	TRIG. mg%	LIP TOTAIS mg	COL. TOT. COL. HDL	
01	16/X/86	45	21	—	—	2,1	Sacrificado 10/XII/86
	14/XI/86	64	33	—	—	1,9	
02	06/X/86	34	—	34	—	2,2	Sacrificado 17/XII/86
	16/X/86	45	20	45	182		
03	06/X/86	34	—	45	—		Sacrificado 10/I/87
	16/X/86	48	21	—	168	2,3	
	14/XI/86	46	—	—	—		
04	06/X/86	48	15	66	—	3,2	Sacrificado 18/I/87
	16/X/86	41	18	—	160	2,3	
	14/XI/86	36	23	58	195	1,6	
05	06/X/86	34	—	62	130		Sacrificado 25/I/87
	16/X/86	51	21	—	—	2,4	
	14/XI/86	40	23	—	196	1,7	
06	06/X/86	25	—	45	—	—	Sacrificado 27/I/87
	16/X/86	24	13	—	75	1,8	
07	16/X/86	1295	59	442	1755	22,0	Sacrificado 10/XII/86
08	16/X/86	1070	64	51	1625	16,7	Sacrificado 17/XII/86
	11/XI/86	2120	56	187	3112	—	
09	17/X/86	1110	69	51	1560	16,0	Sacrificado 10/I/87
	21/X/86	930	—	12	—		
	11/XI/86	2220	66	67	3480	33,6	
10	17/X/86	1190	55	70	1555	21,6	Morre em 18/I/87
	21/X/86	1100	—	144	—	—	
	11/XI/86	2960	—	76	4880	—	
11	17/X/86	1540	48	—	—	32,0	Sacrificado 25/I/87
	21/X/86	950	—	105	1720	—	
	11/XI/86	1848	41	450	2500	45,0	
12	21/X/86	930	—	246	1940	—	Morre em 19/XII/86

Durante o percurso das experiências, morreram 2 coelhos, os quais foram substituídos por outros, recebendo a mesma dieta que os anteriores.

Três (03) dos animais alimentados com a dieta aterogênica, foram estudados angiograficamente, durante o 3^o mês de iniciadas as experiências, os restantes, no 4^o mês do início das mesmas.

Os animais, antes de serem sacrificados, com uma injeção anestésica de embutal, recebiam 1ml de heparina por quilo de peso por via arterial 10 minutos antes do óbito.

A seguir, após tirar a pele do coelho, fazia-se uma laparotomia, seguida de uma toracotomia, com o qual se expunha todas as vísceras do animal.

Após dissecava-se a aorta na passagem diafragmática, introduzindo-se logo, uma cânula, no sentido ascendente do vaso, através da qual, injetava-se entre 60ml, e 80ml, de uma suspensão de um líquido de contraste, mantido a 25 °C, preparado da seguinte maneira:

100 ml	água destilada
35 g	sesquióxido de Pb. (Zarcão)
3,5 g	gelatina em pó

Para facilitar a circulação do líquido de contraste, no sistema arterial, fazia-se uma incisão na auriculeta do átrio direito.

A operação dava-se por terminada, quando se observava a saída da substância de contraste, misturada com o sangue venoso que fluía da cavidade atrial direita.

Terminada esta primeira parte da experiência, invertia-se o sentido da cânula, dirigindo-a para a aorta abdominal. Repetia-se assim, a mesma técnica, injetando-se aproximadamente, 60ml da substância de contraste, através da aorta descendente, seguida da secção da cava inferior. Da mesma forma que na injeção anterior, detia-se a perfusão do líquido de contraste, quando o sangue venoso que saía da cava inferior, aparecia misturado com a dita substância de contraste.

A seguir, secciona-se o corpo do animal em duas metades, sendo uma tóraco-encefálica e a outra abdômino-pelviana, com o fim de facilitar tecnicamente, seus estudos radiográficos.

Este estudo radiográfico, realiza-se, utilizando-se uma fonte radiogênica, que produz irradiações "molles", como o que utiliza-se no Método da Microradiografia, com o qual obtém-se imagens radiográficas de melhor resolução que as obtidas em um aparelho de Rx convencional.

Com a finalidade de fazer um estudo comparativo entre as circulações arteriais normais e supostamente patológicas, sacrificaram-se 4 coelhos normais processando-se eles da mesma maneira que foram alimentados com dieta aterogênica.

RESULTADOS

a) **Coelhos normais.** Os resultados obtidos nos animais testemunhas, nos estudos das imagens radiográficas, permitem comprovar as vantagens do método da microradiografia, que permite apreciar os delicados ramos arteriais das intercostais, nascendo da aorta (ver Fig. 1), assim como os pequenos capilares que irrigam a

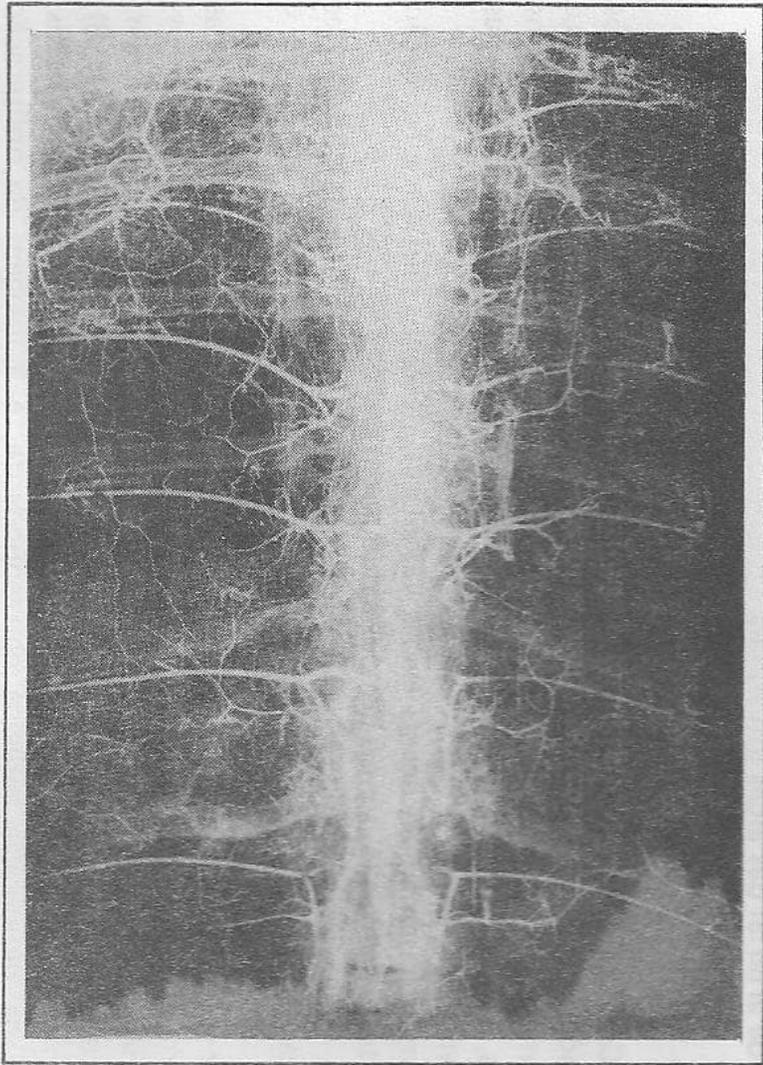


FIGURA 1 – Angiografia normal das artérias intercostais.

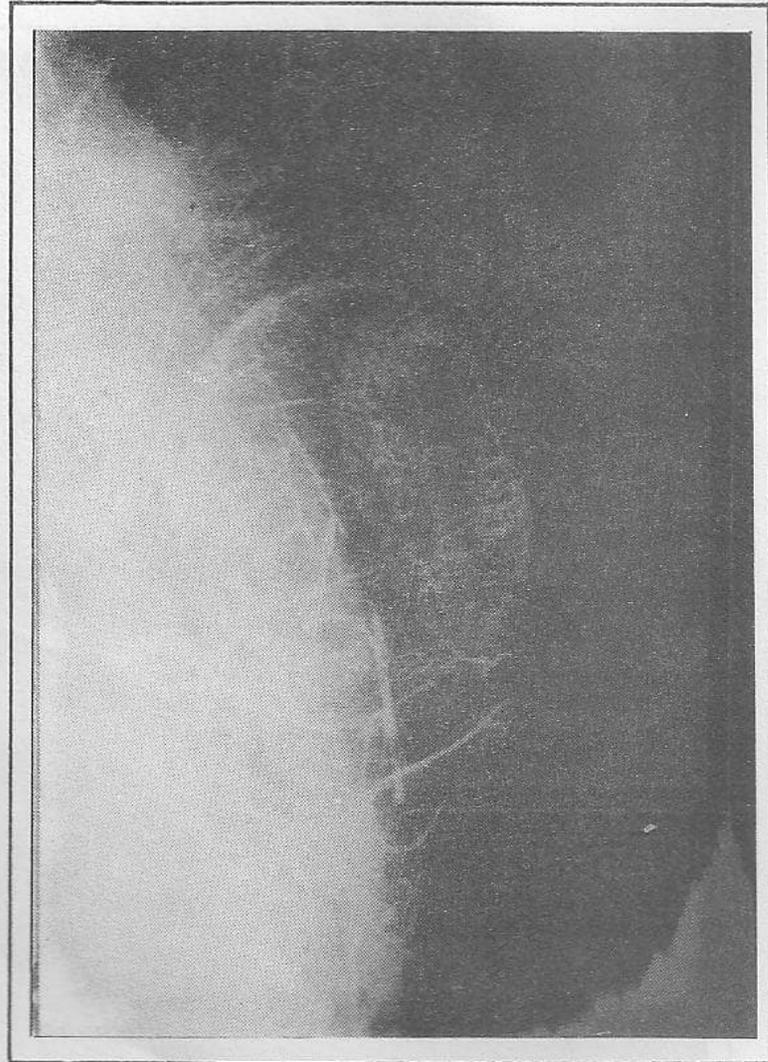


FIGURA 2 – Microangiografia dos pequenos vasos retinianos e coróideos pertencentes a um coelho normal. Observa-se a delicadeza das estruturas vasculares.

retina e as estruturas coróides (ver Fig. 2) além da rede arterial da mesentérica superior (Fig. 3).

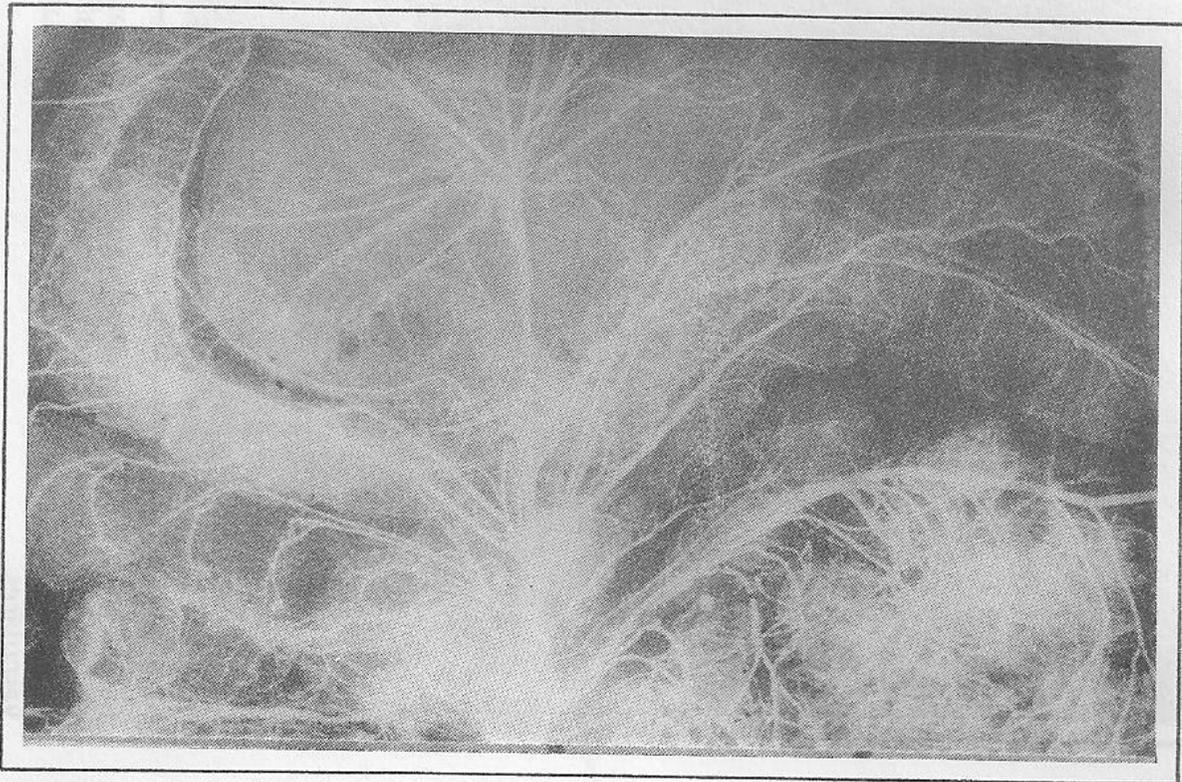


FIGURA 3 – Angiografia da circulação mesentérica de um coelho normal. Observe-se a delicada rede arterial das alças intestinais.

b) **Coelhos alimentados com dieta aterogênica.** Os estudos arteriográficos do sistema aórtico destes animais, alimentados com uma dieta aterogênica, durante períodos compreendidos entre 3^o mês e 4^o mês, mostraram alterações das imagens radiográficas, fundamentalmente ao nível dos óstios das artérias intercostais e nas coronárias (ver Figs. 4 e 7).

Como conseqüência destas lesões vasculares, devemos destacar a formação de dois infartos do coração, sendo um deles documentado nas figuras 5 e 6.

Ao nível do sistema arterial esplânico, não foram achadas alterações macroscopicamente visíveis do diâmetro das artérias mesentéricas, esplênicas e renais.

Fez-se também, um estudo comparativo entre as imagens radiográficas das artérias intercostais, lesadas radiograficamente e de seu aspecto macroscópico aterosclerótico, após a extração da substância de contraste, que ocupava a luz vascular. Do dito estudo comprovou-se a correlação de ambas imagens (ver Figs. 7 e 8), existindo uma correspondência precisa entre a obstrução vascular das intercostais, comprovada na radiografia torácica correspondente, e a imagem da obliteração (parcial ou total) dos óstios daqueles vasos, pela presença de lesões ateromatosas nitidamente visíveis devido o uso da técnica para a pesquisa de lípidos (ver Figs. 8 e 9).

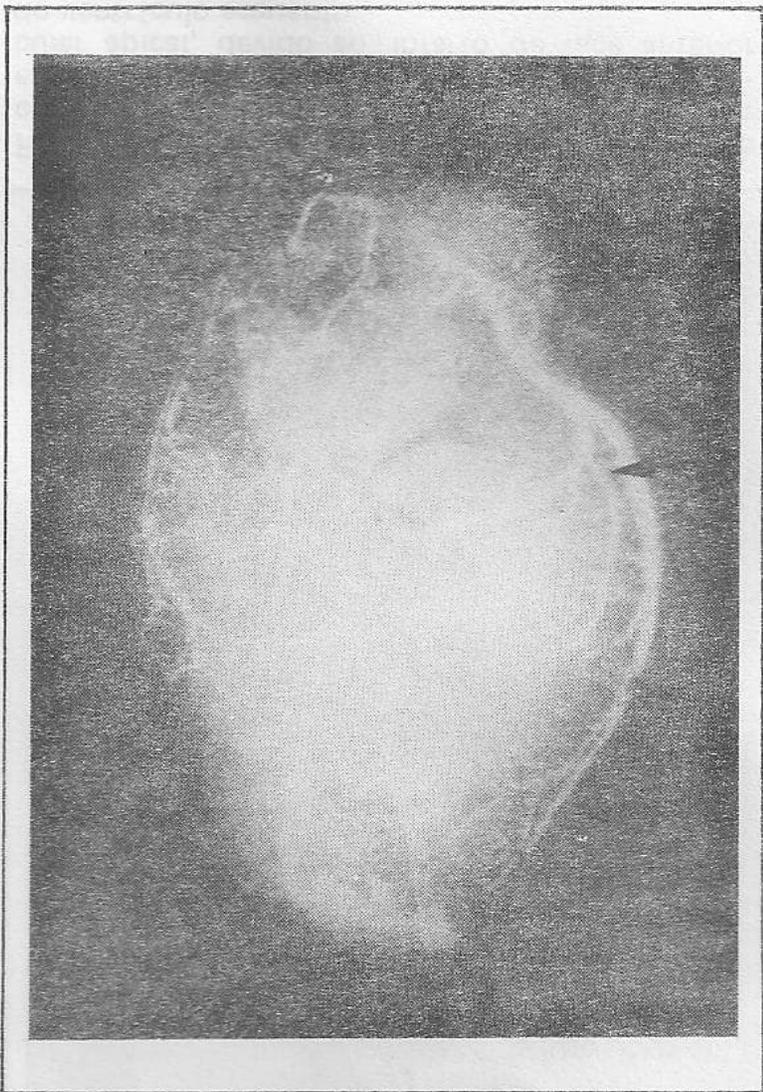


FIGURA 4 — Angiografia das coronárias de um coelho aterosclerótico, mostrando obstruções parciais do ramo descendente da coronária esquerda.

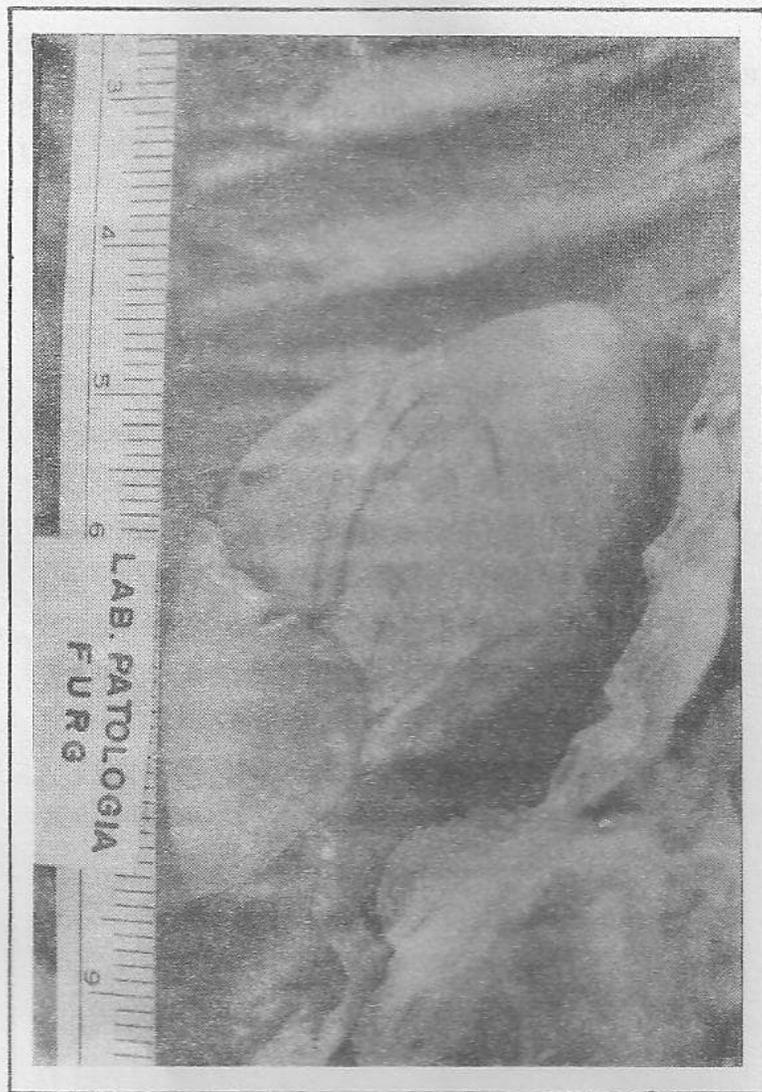


FIGURA 5 — Coração pertencente ao da angiografia anterior, apresentando um extenso infarto da face anterior e ponta, do ventrículo esquerdo.

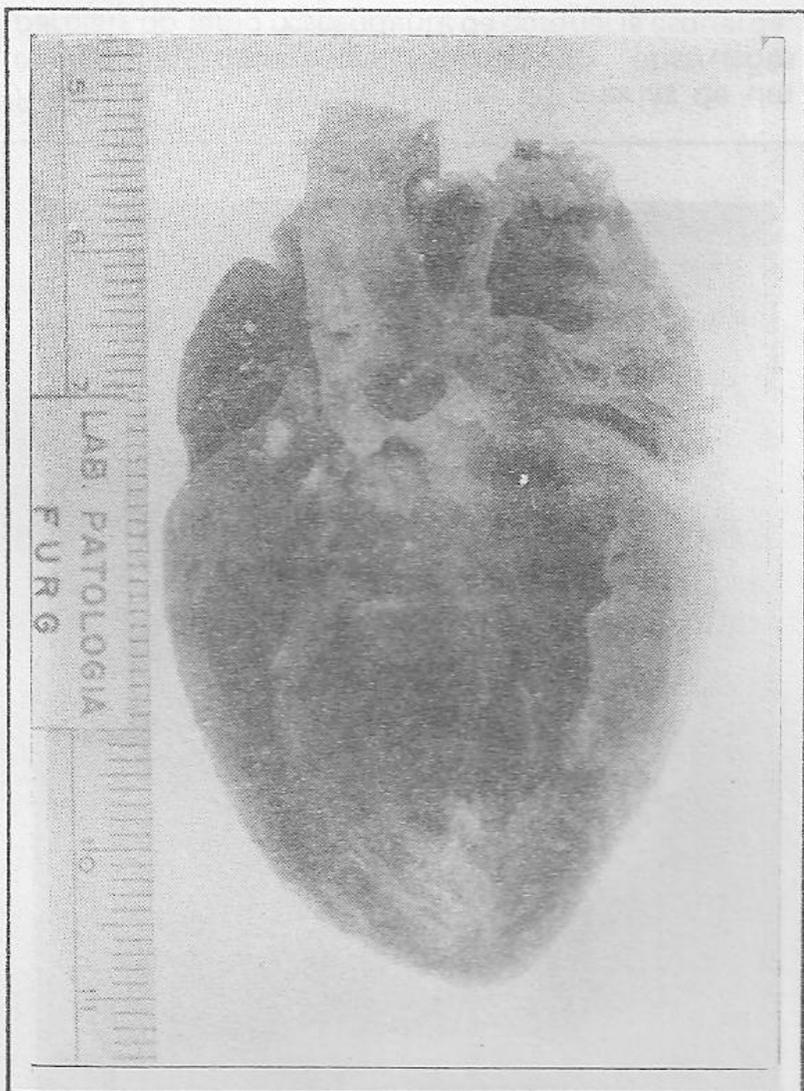


FIGURA 6 — Superfície de secção do coração do caso anterior. Observe-se a dilatação ventricular esquerda, associada a atrofia da parede ventricular apical, devido ao infarto de face anterior do ventrículo esquerdo.

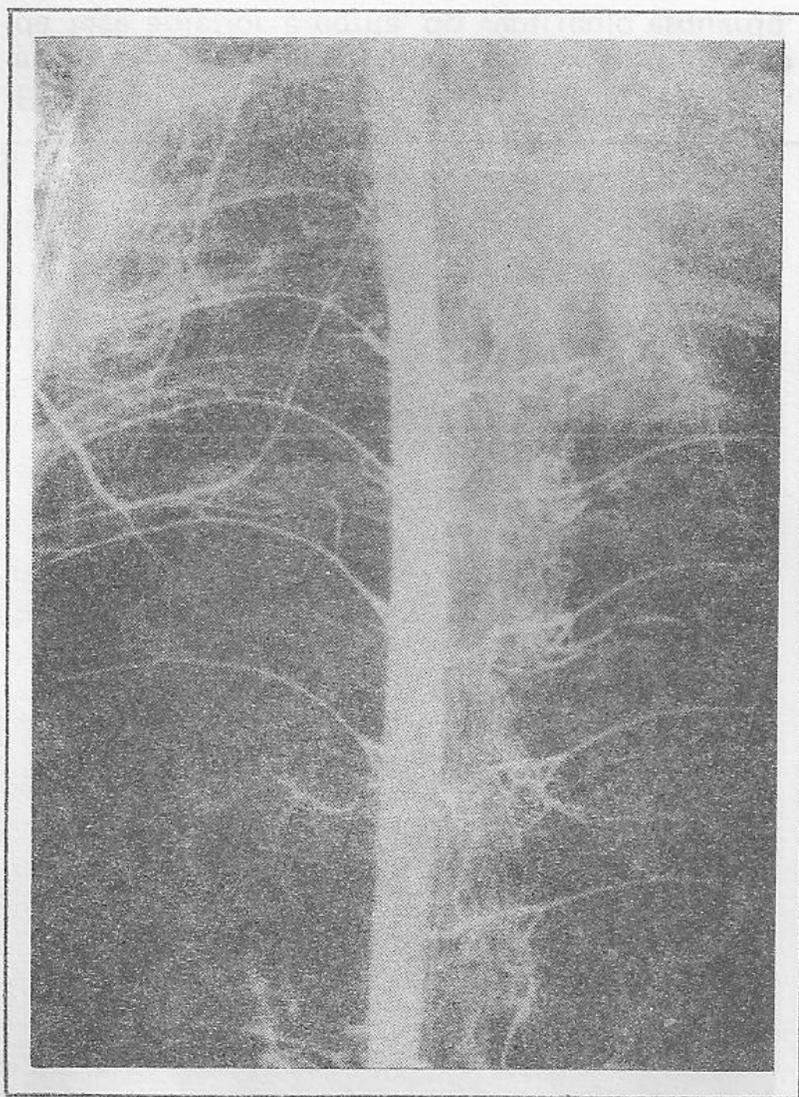


FIGURA 7 — Angiografia das artérias intercostais, mostrando a falta de preenchimento de uma das intercostais por obliteração aterosclerótica de seu óstio aórtico.

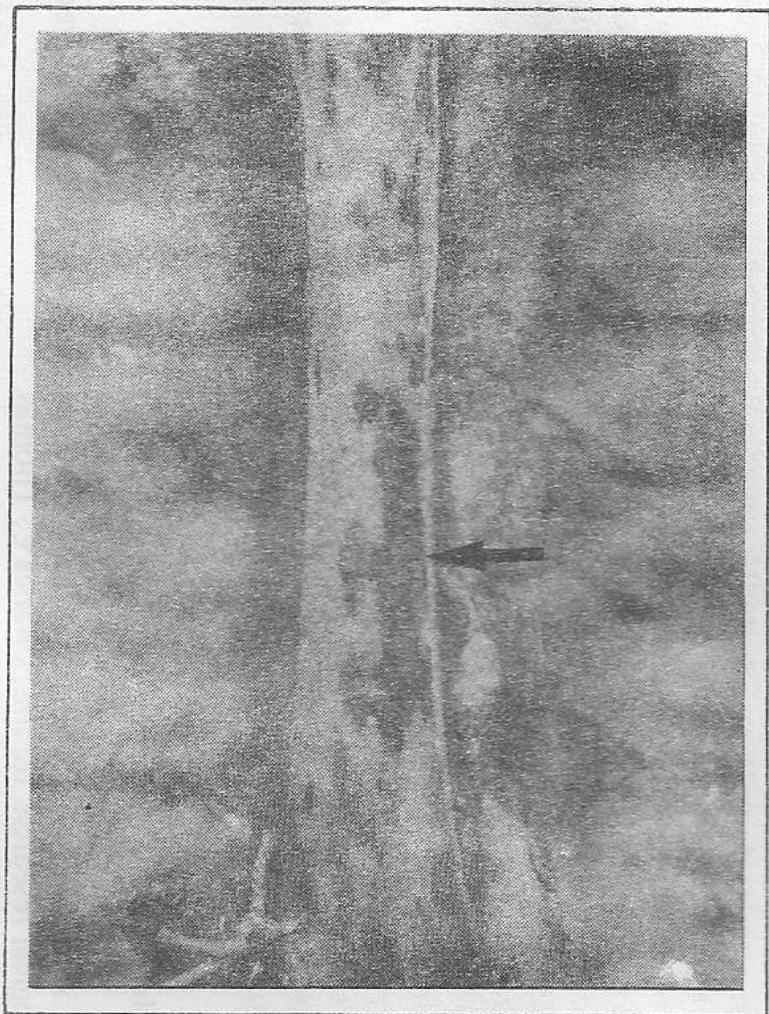


FIGURA 8 – Superfície interna da aorta torácica, correspondente à angiografia da figura 7 expondo várias placas ateromatosas comprometendo a luz dos óstios das artérias intercostais, achando-se totalmente obstruído o assinalado com uma seta. Técnica: Sudan IV.

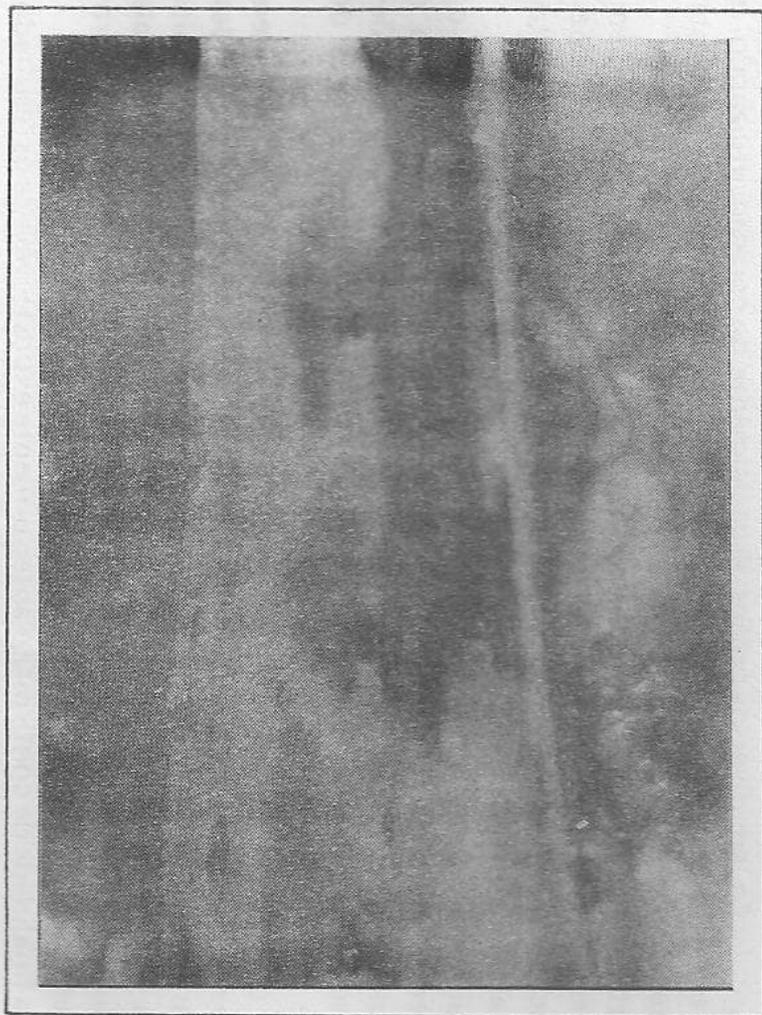


FIGURA 9 – Detalhe da fotografia anterior para mostrar a obliteração total de um dos óstios das intercostais. Técnica: Sudan IV.

DISCUSSÃO

Na bibliografia, existem numerosas referências sobre trabalhos dedicados ao estudo da circulação, em diversos órgãos, especialmente no coração, utilizando-se para este fim, técnicas de perfusão com diversos tipos de substâncias de contraste. Citaremos entre os autores que têm estudado este assunto: Gross^{3,4}, Schlesinger^{7,8}, Blumgart², Barclay¹, Prinzmetal⁶, entre os autores estrangeiros. Citaremos também, entre os autores nacionais, Teixeira⁹, que tem aportado interessantes observações, sobre a circulação coronariana normal e experimentalmente obstruídas, aos efeitos de determinar alguns aspectos da fisiologia das coronárias.

A maior parte dos autores, orientam suas pesquisas na observação da circulação arterial em determinados órgãos. Nós entretanto, temos realizado o estudo da circulação de diversas vísceras em conjunto, procurando detectar as lesões de aterosclerose, em coelhos alimentados com uma dieta aterogênica, a partir do terceiro mês de iniciadas as experiências.

Além do exposto, os resultados obtidos em nossas experiências, permitem comprovar que o método angiográfico, utilizando substâncias de contraste adequadas, associadas a um recurso de Rx, emissor de irradiações moles, tem-se mostrado muito eficiente, para o estudo angiográfico de artérias ateroscleróticas experimentais, seja ao nível da circulação dos ramos arteriais principais, como também na micro-circulação visceral.

Com a finalidade de confirmar o anteriormente exposto, veja-se os resultados obtidos nas angiografias de tórax, pertencentes aos animais alimentados com dieta aterogênica (ver Figs. 4 e 7). Os mesmos permitem demonstrar a existência de obstruções parciais ou totais, dos óstios das artérias intercostais, assim como alterações do diâmetro das artérias do polígono de Willis, e dos vasos coronários. As obliterações destas últimas artérias foram acompanhadas de enfartes, situados na parede anterior e ponta do ventrículo esquerdo, mostrando, assim, uma evidente semelhança, com o que acontece com mais freqüência, quanto à localização do infarto, no ser humano.

Destacam-se, também, as escassas lesões de aterosclerose que apresentam a artéria mesentérica superior e a renal, não detectadas nas angiografias de contraste em nossas radiografias, devido a ausência de formação de ateromas nas paredes de ditos vasos arteriais.

Por último, com respeito aos riscos que pode-se correr, em observação de falsas interpretações, de supostas lesões de aterosclerose, por defeitos da técnica de angiografia de contraste é um fato que deve admitir-se como de ocorrência, mas o uso prático da técnica, permitirá o discernimento entre imagens falsas de aterosclerose, das verdadeiras.

BIBLIOGRAFIA

1. BARCLAY, A. E. *Micro-Arteriography and other radiological technics*. Employed in biological research. Illinois, Charles C. Thomas.
2. BLUMGART, H. L. Coronary arteries as end arteries. *Am. J. Med. Sc. J.*, 321, 1948.
3. GROSS, L. *The blood supply to the heart*. New York, P. Hoehner, 1921.

4. GROSS, L.; BLUM, L.; SILVERMAN, G. Experimental attempts to increase the blood supply to the dog's heart by means of coronary sinus occlusion. *J. Exper.* 65: 91, 1937.
5. HOLMAN, R. L.; Mc GILL, H. C. ; STRONG, J. P.; GEER, J. C. Technics for studying atherosclerotic lesions. *Lab. Inves.*, 7: 42-7, 1958.
6. PRINZMETAL, M.; BERGMAN, H. C.; KRUGER, H. E.; SCHWARTZ, L. L.; SIMKIN, B.; SABIN, S. S. Studies on the coronary circulation III, colateral circulation of besting human and dog's heart, with coronary occlusion. *Am. J. Heart. J.*, 35: 689, 1948.
7. SCHLESINGER, M. J. An injection plus dissection study of coronary artery occlusions and anastomoses.
8. SCHLESINGER, M. J.; ZOOL, P. M.; WESSLER, S. Relation of anatomic pattern to pathologic conditions of the coronary arteries.
9. TEIXEIRA, A. *Circulação coronária*. Caxias do Sul, Ed. UCS, 1982.