

Ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en ratas. Técnica quirúrgica*

Drs. GABRIEL OLIVARES R.¹, SERGIO MORÁN V.¹, CRISTIAN PALACIOS M.¹, FELIPE APABLAZA E.¹, IVÁN GODOY J.¹, RICARDO ZALAQUETT S.¹, MARÍA PAZ OCARANZA J.¹

¹ Departamento de Enfermedades Cardiovasculares. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

Abstract

Ligation of left anterior descending coronary artery. Surgical technique

Background: An experimental model for ligation of the left anterior descending coronary artery (ADA) in rats has been commonly used in research into ischemic cardiopathy. However, this procedure is very difficult, with a high mortality rate. There is little information in the literature regarding its technical aspects. Our objective was to describe a surgical technique for ADA ligation in rats. **Material and Method:** Fifty-one Sprague-Dawley male rats weighting 230 ± 20 gr were anaesthetized and connected to mechanical ventilation. Through a left-side thoracotomy we ligated the ADA 2 mm below the junction of the pulmonary artery and the left atrial appendage. The next day we performed transthoracic echocardiography to confirm our results. **Results:** The mortality rate was 7.8% (4 out of 51). The main cause of death was hemorrhage during surgery. The average time for the procedure was 45 ± 5 min. We confirmed hypokinesia of the anterior lateral wall in 100% of the surviving rats. **Discussion:** This procedure was reproducible and safe, with less than 10% mortality.

Key words: Ligation, coronary vessels, rats, animal experimentation, heart surgical procedure.

Resumen

Introducción: El modelo experimental de ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda (ADA) en ratas, ha sido de gran ayuda para el estudio de la cardiopatía isquémica. Sin embargo, es un procedimiento difícil de realizar y con alta mortalidad operatoria. Existe poca información de sus aspectos técnicos. El objetivo de nuestro trabajo fue describir en detalle la técnica quirúrgica de la ligadura de la ADA en ratas. **Material y Método:** Se utilizaron 51 ratas machos Sprague-Dawley 230 ± 20 gr de peso anestesiadas y conectadas a ventilación mecánica. A través de una toracotomía izquierda se ligó la ADA, 2 mm debajo de la intersección entre la arteria pulmonar y la orejuela izquierda. Al día siguiente se realizó una ecocardiografía

*Recibido el 4 de agosto de 2011 y aceptado para publicación el 26 de septiembre de 2011.

Financiamiento: Proyecto de Investigación para Becarios Residentes de la Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile, Centro de Investigaciones Médicas (CIM).

Correspondencia: Dr. Gabriel Olivares R.
Marcoleta 367, 8° Piso, Santiago, Chile.
golivarr@uc.cl

transtorácica para confirmar la presencia de hipocinesia. **Resultados:** La mortalidad operatoria fue de 7,8% (4 de 51). La principal causa de muerte fue la hemorragia en el intraoperatorio durante la curva de aprendizaje. El tiempo operatorio promedio fue de 45 ± 5 min. Se confirmó la presencia de una hipocinesia de la pared anterolateral en el 100% de las ratas supervivientes. **Discusión.** Esta técnica es un procedimiento reproducible y seguro, con una mortalidad menor al 10%.

Palabras clave: Ligadura, vasos coronarios, ratas, experimentación animal, procedimientos quirúrgicos cardíacos.

Introducción

La ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda (ADA) en ratas es un modelo experimental que ha sido ampliamente utilizado para el estudio de los efectos de la cardiopatía isquémica en el corazón¹⁻³. El Laboratorio de Cardiología Molecular de nuestro departamento utiliza en forma estandarizada un método de ligadura de la ADA en ratas¹⁻⁴. Este modelo de infarto miocárdico *in vivo* nos permite evaluar fenómenos fisiopatológicos complejos como el daño por isquemia-reperusión, entre otros. Sin embargo, es un procedimiento difícil de realizar y se acompaña de mortalidad operatoria que fluctúa entre un 7 a 21%^{4,5}. No existen publicaciones nacionales con respecto al procedimiento quirúrgico y publicaciones internacionales utilizan técnicas distintas^{4,5}. El objetivo de nuestro trabajo fue describir nuestra técnica quirúrgica de ligadura de la ADA en ratas.

Material y Método

La descripción de este protocolo está incluido dentro de una investigación de protección miocárdica con un modelo animal *in vivo* de daño por

isquemia-reperusión y fue aprobado por el comité de ética del Centro de Investigaciones Médicas (CIM) de nuestro hospital. El procedimiento fue realizado por el cirujano utilizando magnificación óptica de 2,5D.

Se usaron ratas machos Sprague-Dawley con peso promedio de 230 ± 20 gr. En condiciones asépticas fueron anestesiadas con Ketamina 35 mg/kg y Xilacina 7 mg/kg y luego intubadas con una cánula de 14 French y conectados a ventilación mecánica.

Se rasuró la piel anterior del tórax y luego se aseptizó con alcohol. Las ratas fueron colocadas en posición supina en la tabla operatoria. Se realizó una incisión en la línea media anterior del tórax y luego se disecó la piel sobre el hemitorax izquierdo del animal. Se separaron los músculos pectorales con disección roma, los cuales fueron traccionados con una sutura para permitir una mejor visión (Figura 1).

La toracotomía se realizó sobre el 4° ó 5° espacio intercostal izquierdo en la línea medio clavicular y se colocó un retractor, fabricado en nuestro laboratorio, para separar las costillas (Figura 2), el que debe ser instalado en forma cuidadosa para evitar lesiones en el corazón o pulmón. Se abrió el pericardio cuidadosamente y se aisló parcialmente el timo, el que fue utilizado para obtener una tracción superior y per-

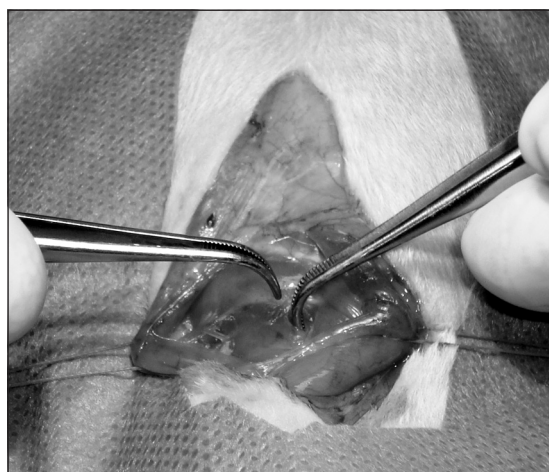


Figura 1. Se realizó una incisión de la piel en la línea media anterior y se disecaron los músculos pectorales en el hemitorax izquierdo, los cuales fueron traccionados con suturas.

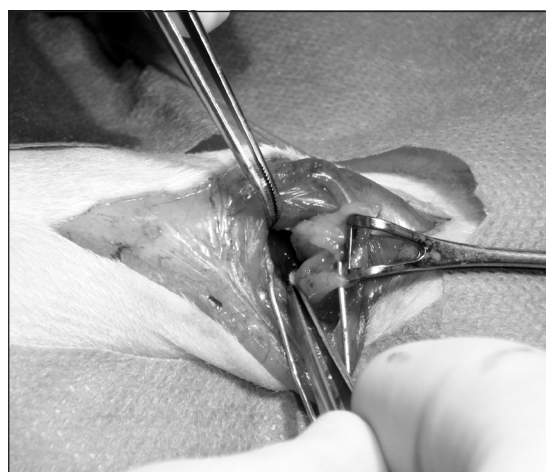


Figura 2. Se abrió el tórax a nivel del 4° ó 5° espacio intercostal, se instaló un retractor y se utilizó el timo para realizar una tracción superior.

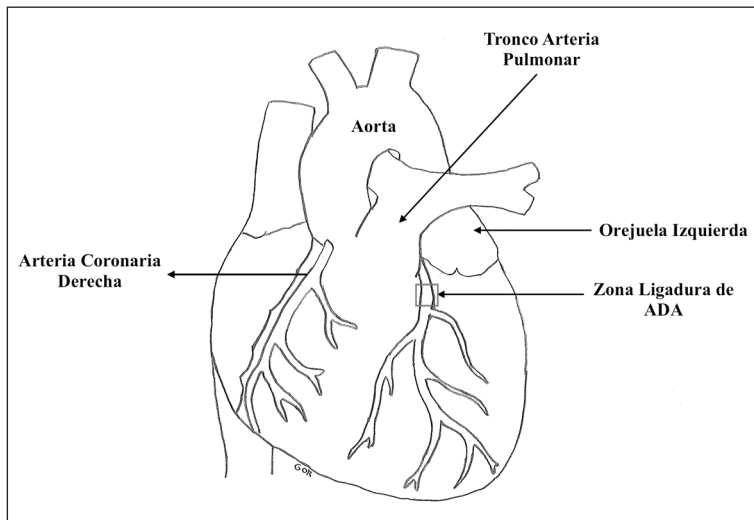


Figura 3. En este dibujo se demuestran los principales aspectos anatómicos de la ADA y el lugar donde se realizó la ligadura.

mitir una mejor visualización del campo quirúrgico (Figura 2). Se identificó la ADA en la cara anterior del corazón aproximadamente 2 mm debajo de la intersección de la arteria pulmonar con la orejuela izquierda y se rodeó con sutura de prolene 7-0 y se ligó o bien se realizó la oclusión reversible, según corresponda (Figura 3). Se debe tener precaución con la orejuela izquierda y la arteria pulmonar, para evitar hemorragias.

Es posible evaluar su resultado en forma inmediata, debido a que el corazón se torna pálido en la pared anterior y lateral en forma casi inmediata. Finalmente se realizó el cierre de la pared torácica por planos y se agregaron antibióticos tópicos a la piel.

A continuación se realizó una monitorización estricta del animal hasta la extubación y recuperación de la anestesia. Luego el animal fue trasladado a su jaula.

Para evaluar el resultado del procedimiento se realizó un control ecocardiográfico transtorácico al día siguiente de la operación.

Resultados

Se operaron 51 ratas, este grupo formó parte de un protocolo de investigación de protección miocárdica al que se le realizó una ligadura reversible de la ADA durante 30 min.

Mortalidad operatoria fue de 7,8% (4 de 51). La principal causa de muerte fue la hemorragia en el intraoperatorio durante la curva de aprendizaje, que puede ocurrir durante la instalación del retractor, por lesión de la orejuela izquierda o la arteria pulmonar y finalmente por desgarro de la ligadura de la ADA.

El tiempo operatorio promedio fue de 45 ± 5 min.

Las ratas fueron sometidas a una ecocardiografía transtorácica al siguiente día para confirmar la presencia de una hipocinesia de la pared antero lateral, la que fue evidente en el 100% de las ratas supervivientes. Posteriormente, las ratas fueron sacrificadas por motivos de protocolo.

Discusión

La ligadura de la ADA en ratas es un procedimiento ampliamente utilizado, pero existen pocas publicaciones sobre la técnica quirúrgica y la descripción de las principales referencias anatómicas.

En 1954, Johns et al⁴, publicó una de las primeras experiencias de infarto del miocardio en animales pequeños, con una excelente descripción de la anatomía coronaria, este método tiene una incidencia de infarto en ratas del 83% y con una mortalidad operatoria de 21%. Posteriormente, Fishbein et al⁶, describió la historia natural del infarto del miocardio en ratas, pero no realizó mención de la técnica quirúrgica y de sus resultados. Recientemente Samsamshariat et al⁵, describieron en forma detallada la técnica quirúrgica, con una incidencia de infarto miocárdico de 100% y una mortalidad operatoria de 2,7%.

Si bien nuestro trabajo sólo incluyó la ligadura reversible de la ADA por motivos de estudio del proceso de isquemia-reperusión, los aspectos anatómicos más importantes son los mismos utilizados para la oclusión permanente de la ADA en modelos de estudio de infarto^{1,2,4,6}, por lo que nuestro trabajo no es exactamente comparable con las publicaciones recién mencionadas^{4,5}.

Desde el punto de vista técnico, existen diferencias con los otros protocolos publicados. Nosotros

utilizamos una toracotomía a través de los músculos intercostales, instalamos un retractor intercostal y sutura prolene 7-0, ya que es más fina y causa menos trauma. Otras publicaciones, durante la toracotomía cortan la 5ª y 6ª costilla, utilizan un dispositivo que exterioriza el corazón⁵ y suturas más gruesas^{4,5}.

Uno de los desafíos más importantes del modelo es lograr pasar el punto de la sutura por el lugar exacto y realizar una compresión adecuada de la arteria descendente anterior, la que puede ser evaluada inmediatamente, debido a que el corazón se observará pálido en la pared anterior.

Durante la curva de aprendizaje la mayor complicación fue la mortalidad por hemorragia, la que puede ocurrir durante la apertura de la pared torácica, por lesión de la orejuela izquierda o de la arteria pulmonar durante la colocación de la sutura alrededor de la ADA y por desgarro del miocardio.

Esta técnica ha sido utilizada anteriormente en trabajos de nuestro laboratorio^{1,3} y consideramos que es una técnica reproducible y con una mortalidad aceptable menor al 10% y una eficacia del 100%.

Los detalles de la técnica quirúrgica que utilizamos en nuestro grupo de trabajo, esperamos servirá a la realización de trabajos de isquemia miocárdica en el futuro.

Referencias

1. Piddo AM, Sánchez MI, Sapag-Hagar M, Corbalán R, Foncea R, Ebensperger R, et al. Cyclic AMP-dependent protein kinase and mechanical heart function in ventricular hypertrophy induced by pressure overload or secondary to myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1996;28:1073-83.
2. Ocaranza MP, Godoy I, Jalil JE, Varas M, Collantes P, Pinto M, et al. Enalapril attenuates downregulation of angiotensin-converting enzyme 2 in the late phase of ventricular dysfunction in myocardial infarcted rat. *Hypertension* 2006;48:572-8.
3. López R, Arismendi M, Sáez JC, Godoy I, Ocaranza MP. Boldina disminuye la apoptosis post isquemia reperusión en la rata. *Rev Chil Cardiol.* (En prensa).
4. Johns TNP, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg.* 1954;140:675-82.
5. Samsamshariat SA, Samsamshariat ZA, Movahed MR. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats. *Cardiovasc Revasc Med.* 2005;6:121-3.
6. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat. *Am J Pathol.* 1978;90:57-70.