

Cateter de Silicone no Espaço Peridural: Modelo Experimental no Rato

Maria de Lourdes Campos Costa¹, Judymara Lauzi Gozani², Ronaldo Monteiro Costa³ & Pedro Geretto⁴

Costa M L C, Gozani J L, Costa R M, Geretto P - Silicone rubber epidural catheter: experimental model in mice.

Silicone rubber catheter was implanted in the epidural space of eleven rats using the Durant-Yaksh technique (experimental model). The permeability of the catheter was confirmed by the administration of 0.75% bupivacaine (40 µl) or 0.9% saline (40 µl) followed by analgesic tests (tail immersion). The findings demonstrate that the silicone rubber catheter is an efficient and cheap option to study the epidural space in rats.

Key Words: ANIMAL: rat; ANESTHETIC TECHNIQUES, Regional: epidural

As técnicas originais de bloqueio subaracnóideo e peridural contínuo foram difundidas na década de 40^{1,2}, quando eram utilizados cateteres de seda gomada. Esses cateteres, de difícil esterilização, propiciavam infecções, o que motivou sua substituição por materiais de plástico como polietileno, nylon e teflon³.

No campo experimental, a primeira descrição com o uso crônico de cateter subaracnóideo no rato foi feita por Yaksh, em 1976⁴. Os receptores opióides medulares tinham sido evidenciados^{5,6} e a necessidade de analisar os efeitos antinociceptivos da morfina por via espinhal, no animal acordado, indicavam o rato como

o mais adequado. Além da facilidade de manipulação do animal em vigília, quando comparado com o mesmo experimento em animais de maior porte, o rato tem indicação vantajosa pelos custos financeiros reduzidos.

Na técnica original para cateterização intratecal do rato, Yaksh introduziu cirurgicamente um cateter de polietileno na região cervical, via membrana atlanto-occipital, fazendo-o migrar até o espaço subaracnóideo, às proximidades do alargamento lombar, onde posteriormente testou os efeitos analgésicos de microdoses de morfina⁷.

Esse modelo, embora padronizado para estudos de drogas por via intratecal, não permite o acesso ao espaço peridural.

A cateterização do espaço peridural do rato foi conseguida, em 1961, por Van den Hoogen e Colpaert, inserindo cateter de polietileno após laminectomia da terceira vértebra lombar⁸. Bahar e colaboradores⁹ prosseguiram com a mesma técnica, empregando cateter de nylon dotado de menor diâmetro e mais rigidez, introduzido por laminotomia na penúltima vértebra lombar. Algumas dificuldades cirúrgicas foram superadas com as modificações propostas por Durant e Yaksh, em 1986, que utilizaram cateter de polietileno para identificar o espaço peridural após perfuração do ligamento amarelo sob visão microscópica¹⁰.

Em 1989, Costa e colaboradores reproduziram a técnica de Durant-Yaksh, empregando cateter de nylon pediátrico com fins de investigação de drogas no

Trabalho realizado na Disciplina de Anestesiologia da Escola Paulista de Medicina (EPM).

1 Pós-graduando em Anestesiologia na EPM. Professor Adjunto de Anestesiologia da Universidade Federal do Pará e Faculdade Estadual de Medicina do Pará (FEMP)

2 Professor Adjunto de Anestesiologia da EPM

3 Pós-Graduando em Reumatologia da EPM. Professor Titular de Propedêutica Médica da FEMP. Professor Adjunto IV de Reumatologia da EPM

4 Professor Titular de Anestesiologia da EPM

Correspondência para Maria de Lourdes Campos Costa
Escola Paulista de Medicina
Rua Cônego Eugênio Leite, 652/74
05414 - São Paulo - SP

Recebido em 15 de março de 1990

Aceito para publicação em 12 de novembro de 1990

© 1991, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

espaço peridural do rato¹¹. Recentemente, os mesmos autores fizeram estudo comparativo do cateter de nylon pediátrico com o cateter de borracha de silicone SILASTIC, concluindo-se que os dois tipos de cateteres mostram-se igualmente eficientes¹².

No presente estudo avaliamos a eficácia da técnica de Durant-Yaksh, empregando cateter de borracha de silicone, de alta flexibilidade, com o objetivo de implementar investigações do espaço peridural do rato para testes preliminares de drogas, face à facilidade de execução do método e as vantagens da relação custo/benefício.

METODOLOGIA

Foram incluídos neste estudo onze ratos machos Wistar, com idade de 3 a 6 meses e pesando entre 350 e 400 g.

Preparo do cateter

O cateter empregado é constituído de borracha de silicone SILASTIC, com 0,64 mm de diâmetro externo, 0,30 mm de diâmetro interno e 18 cm de comprimento. A dois centímetros da extremidade a ser introduzido, o cateter foi demarcado com tinta esmalte para evitar progressão excessiva do mesmo. O espaço morto foi aferido em 1,3 $\mu\text{l}\cdot\text{cm}^3$, utilizando a microsseringa de Hamilton, com capacidade para 250 μl e graduada de 5 em 5 μl .

Procedimentos cirúrgico

Os animais foram anestesiados com tiopental sódico por via intraperitoneal a 1,25%, na dose de 0,03 a 0,05 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Após tricotomia lombar e cervical, o animal foi posicionado em decúbito ventral, sendo fixado pelas patas dianteiras e traseiras. Um suporte cilíndrico com três centímetros de diâmetro foi colocado sob o abdomen, com o objetivo de aumentar a curvatura da coluna lombar. Realizada a anti-sepsia lombar com álcool iodado a 2%, o rato foi coberto com campo cirúrgico de material plástico descartável, previamente esterilizado em óxido de etileno. Tomando-se como referência a sexta vértebra lombar, situada no ponto médio de uma linha imaginária entre as duas cristas ilíacas, incizou-se a pele no sentido do maior eixo do corpo sobre os processos espinhosos de L4, L5 e L6. Procedeu-se a retirada cirúrgica do processo espinhoso da última vértebra lombar, desobstruindo-se, a seguir, a base da quinta vértebra lombar por

dissecção dos tecidos moles até a exposição do ligamento amarelo. Usou-se um microscópio óptico (Amplikon ME - M6) com aumento de dez vezes para evidenciar o ligamento amarelo, o qual foi perfurado com agulha 22 G descartável, cuja ponta tinha sido previamente dobrada em ângulo reto. O cateter foi introduzido pelo pertuito deixado pela agulha, paralelamente à dura-máter, e orientado cefalicamente numa extensão de dois centímetros.

Durante as etapas de perfuração do ligamento amarelo e introdução do cateter, a flexão lombar do rato foi acentuada ao máximo, com a finalidade de aumentar as dimensões do espaço peridural. Para manter o cateter na posição, evitando-se possíveis deslocamentos no espaço peridural, pequena quantidade de acrílico polimerizável dental foi colocada sobre o mesmo, fixando-o na parte óssea no local onde tinha sido removido o processo espinhoso. O restante do cateter foi tunelizado com dispositivo intravenoso de plástico, descartável (ABBOCATH 18) pelo subcutâneo, sendo exteriorizado na região cervical numa extensão de três centímetros. A extremidade externa do cateter foi ocluída com fio metálico. A intervenção foi concluída aproximando-se a musculatura lombar de forma a envolver o cateter e suturando-se a pele com mononylon 4-0.

Os animais foram mantidos isolados com alimentação e água ofertada *ad libitum*.

Teste de eficiência do cateter

Para avaliar a viabilidade de administração de drogas pelo cateter de silicone, para o espaço peridural, os ratos foram estudados em duas situações: 1) vinte e quatro horas após a cateterização, injetando-se 40 μl de solução salina a 0,9% pelo cateter; 2) quarenta e oito horas após a canulação, administrando-se, pela mesma via, 40 μl de bupivacaína a 0,75%. Em ambas situações administraram-se uma dose complementar de 25 μl de solução salina para preenchimento do espaço morto do cateter.

Em seguida às injeções observou-se o comportamento dos animais quanto à movimentação e a reação à estimulação nociceptiva por meio de testes de analgesia (pinçamento das patas e imersão da cauda).

Testes de analgesia

O teste de pinçamento foi efetuado pela aplicação de pinça cirúrgica nas patas dianteiras e traseiras. O resultado foi estabelecido em termos positivo (quan-

do retirava a pata) e negativo (quando não retirava a pata).

Para efetivação do teste de imersão da cauda, o rato foi colocado em uma gaiola individual de pequenas dimensões, que não permitia livre movimentação, dotada de um orifício posterior para manter a cauda exteriorizada. Mergulhou-se cerca de cinco centímetros da cauda do rato em água aquecida a 55°C. O término do teste era indicado pela retirada da cauda. O tempo máximo deste teste foi estipulado em quinze segundos, independente do tipo de resposta, conforme preconizado na literatura¹³.

A recuperação anestésica foi considerada, em termos do retorno, a condição habitual do animal quanto à movimentação para comer e beber.

Dez dias após a intervenção cirúrgica todos os animais foram sacrificados, sob anestesia geral. Por ocasião do sacrifício, cada cateter foi examinado por microscopia óptica, para verificar se apresentava obstrução, injetando-se a seguir 250 ml de azul-de-metileno.

RESULTADOS

Não foram observadas complicações anestésico-cirúrgicas como consequência da cateterização cirúrgica, com SILASTIC, no espaço peridural dos ratos. O tempo de recuperação anestésica foi variado: no dia seguinte todos os onze ratos apresentaram movimentação rápida e habilidade para comer e beber.

Reação inflamatória e secreção purulenta não foram detectadas ao exame macroscópico no local da intervenção e no trajeto do cateter.

Quanto à administração de drogas, o SILASTIC foi considerado eficiente. Os ratos que receberam bupivacaína apresentaram completa imobilidade na metade posterior do corpo durante a fase de bloqueio motor completo, que correspondeu entre 5 e 30 minutos após a injeção do fármaco. Nesse período, o deslocamento do animal se fez pelas patas anteriores que, mantendo mobilidade normal, arrastavam a porção posterior paralisada. A medida que o bloqueio regredia, as patas posteriores participavam gradativamente da movimentação, até completa recuperação, o que ocorreu num tempo de 55 ± 6 minutos.

Sob efeito do anestésico local, o pisamento das patas traseiras foi negativo, contrastando com a reação fortemente positiva nas patas dianteiras.

O teste de imersão da cauda (Fig. 1) revelou que, embora a latência pré-droga fosse quase idêntica nas duas situações (solução salina e marcaína), a latência

pós-bupivacaína era significativamente superior àquela registrada após solução salina.

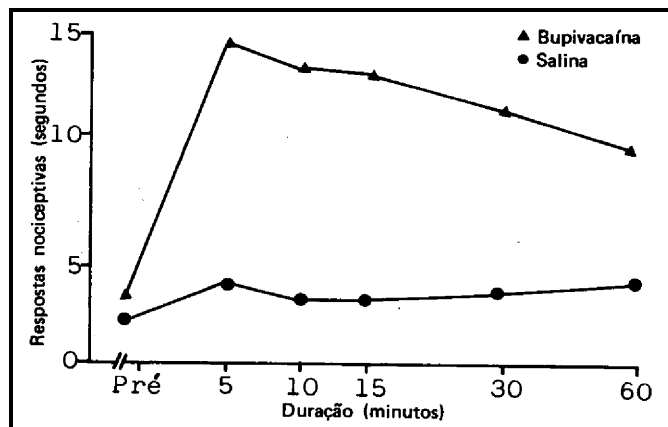


Fig. 1 Respostas nociceptivas ao teste de imersão da cauda após administração epidural de 40 µl de bupivacaína a 0,75% (930 nmol) e 40 µl de solução salina. Cada ponto representa a média \pm DP obtida de onze ratos. A diferença quanto ao efeito analgésico foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

Após injeção de solução salina, os ratos não apresentaram modificação quanto à deambulação e retiravam imediatamente a pata quando pinçada, ou seja, o teste era positivo. As respostas ao teste de imersão da cauda nessa condição não foram significantes.

Os cateteres retirados e examinados por microscopia óptica não apresentaram obstrução e permitiam livre fluxo do azul-de-metileno.

DISCUSSÃO

O rato possui seis vértebras lombares, cujos processos espinhosos e transversos aumentam de tamanho à medida que se distanciam caudalmente, bem como o processo espinhoso torna-se mais ereto¹⁴. O processo espinhoso da sexta vértebra está disposto em angulação aguda com relação ao eixo principal da coluna lombar, comprometendo a introdução da agulha de punção. Observa-se que a flexão máxima da coluna lombar propicia abertura do espaço interespinhoso suficiente para introdução de uma agulha de injeção 30 x 7. Devido, porém, à reduzida dimensão do espaço peridural do rato há grande possibilidade de lesão de medula quando se tenta identificar o espaço.

Antes do atual estudo utilizou-se a técnica de Bahar (dados não publicados), que preconiza lamino-

tomia na quinta vértebra lombar. A técnica é de difícil realização e o tempo de cirurgia é longo, sempre acima de uma hora, devido principalmente à delicada perfuração da lâmina óssea, que oferece risco de lesão de dura-máter. Optou-se pela técnica de Durant-Yaksh, dada a simplificação e, após reproduzi-la repetidamente, foi conseguido realizá-la num tempo médio de trinta minutos.

Com este método, ainda num estudo piloto¹³, foram utilizadas 15 animais nos quais implantou-se cateter de nylon Portex, dotado de 0,25 mm de diâmetro interno e 0,75 mm de diâmetro externo¹¹. No presente estudo, optou-se por empregar um cateter de borracha silicone, de fácil aquisição no mercado nacional. O SILASTIC ref 602-105 tem dimensões compatíveis com o uso proposto, mas apresenta característica de flexibilidade diferente dos cateteres que são usados habitualmente para anestésias peridural clínica e experimental. Já foi utilizado para anestesia peridural em pacientes cancerosos¹⁵, observando-se redução na necessidade de troca em relação a outros tipos de cateter.

A técnica de Durant-Yaksh mostrou-se ideal para o uso de cateter SILASTIC, por permitir que ele penetrasse dois centímetros no interior do espaço peridural com a mesma facilidade que o de nylon, com a vantagem de menores possibilidades de romper a dura-máter ou irritar raízes nervosas, conforme, observou-se por reações reflexas em alguns animais nos quais foi implantados cateter de nylon.

Devido à característica de alta flexibilidade, este tipo de cateter requer treinamento mais intensivo.

Outras mudanças introduzidas à metodologia inicial referem-se à esterilização, marcação e fixação do cateter. Embora Yaksh simplificasse a esterilização do cateter de polietileno com acetona, optou-se por óxido de etileno, como referido para os de nylon.

Não se verificaram sinais de infecção local nesse grupo, provavelmente devido à observância de normas de assepsia.

A marcação do cateter foi feita com tinta esmalte, conforme referido. Observações macroscópicas não detectaram reações teciduais a esse produto, o que motivou a continuidade de seu uso. A utilização de outros materiais, empregados anteriormente para fixação, como mononylon fixado ao cateter por cola, ou acrílico polimerizável usado em cranioplastia envolvendo o ponto a ser demarcado, foi rejeitada por promoverem a obstrução do pertuito do cateter após endurecimento. Observou-se, entretanto, que o uso de uma pequena quantidade de acrílico polimerizável dental aplicada após a introdução do cateter funciona

bem para fixá-lo na parte óssea da coluna, sem ocluir, provavelmente porque não envolve toda a circunferência da cânula.

Como possuem maior diâmetro interno que os de nylon e polietileno, esses cateteres comportam maior volume de líquidos quando comparados em comprimentos iguais. Em relação ao cateter de nylon pediátrico, cujo espaço morto é de 0,6 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$, o SILASTIC tem valor dobrado: 1,3 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$. É essencial calcular o volume do espaço morto do cateter implantados no espaço peridural do rato, uma vez que se utilizam microvolumes em um espaço bastante reduzido.

Durant e Yaksh, estudando a anatomia do rato, inferiram que o espaço peridural atinge dimensões máximas de um milímetro quando se promove flexão máxima da coluna lombar¹⁰. Observaram também que o volume ideal de bupivacaína a 0,75% para produzir analgesia cirúrgica é de 40 μl , não recomendando a injeção de volumes superiores a 100 μl . Na prática, constatamos esta assertiva pelo óbito imediato de dois animais (não incluídos neste estudo) que receberam inadvertidamente 179 ± 10 da droga por via epidural.

Trabalhando com lidocaína a 2%, Bahar aferiu em 46 ± 2 μl o volume desse anestésico necessário para produzir analgesia epidural no rato⁹.

Quanto à permeabilidade do cateter de silicone, observou-se que, devido a sua estrutura antiaderente, o orifício é mantido livre mesmo após dez dias de implantação no espaço epidural, o que não ocorre com o de polietileno, que obstrui durante esse período, dificultando a administração de drogas¹⁰.

O SILASTIC pode ser adquirido em território nacional por valor duas vezes menor que o de nylon ou o de polietileno, não tendo que enfrentar os trâmites de importação necessários para esses últimos.

Embora os cateteres indicados para anestesia peridural sejam idealmente de rigidez manobrável³, a necessidade de desenvolver pesquisa no espaço extramural do rato induziu ao uso de material de alta flexibilidade, que satisfizes plenamente aos objetivos propostos. Devido a essa peculiaridade, eles requerem treinamento mais intenso para manipulá-los pela técnica descrita.

Concluímos que o modelo experimental de peridural no rato proposto por Durant-Yaksh tem execução facilitada quando se emprega cateter de borracha de silicone. A fácil aquisição desse material juntamente com o baixo custo propiciam a simplificação necessária para realização de pesquisa, em nosso meio, principalmente quanto à toxicologia e farmacologia do espaço peridural.

Costa M L C, Gozani J L, Costa R M, Geretto P - Cateter de silicone no espaço peridural: modelo experimental em ratos.

Foi implantado cateter de borracha de silicone no espaço peridural de onze ratos usando a técnica de Durant-Yaksh (modelo experimental). A permeabilidade do cateter foi confirmada por injeção peridural de bupivacaína a 0,75% (40 µl) ou solução salina a 0,90% (40 µl), realizando-se, a seguir, testes de analgesia (imersão da cauda). Os resultados sugerem que a técnica de Durant-Yaksh é de fácil execução e que o cateter de borracha de silicone é uma opção eficiente, de baixo custo, para se estudar o espaço epidural em ratos.

Unitermos: ANIMAL: rato; TÉCNICA ANESTESIA, Regional: peridural

Costa M L C, Gozani J L, Costa R M, Geretto P - Cateter de silicona en el espacio peridural: modelo experimental en rata.

Fué implantados cateter de silicona en el espacio peridural de once ratas usando la técnica de Durant-Yaksh (modelo experimental). La permeabilidad del cateter fué confirmada por inyección peridural de bupivacaína al 0.75% (40 µl), o solución salina al 0.9%, (40 µl). Se realizaron, después, pruebas de analgesia (inmersión de la cola). Los resultados sugieren que la técnica de Durant-Yaksh es de fácil ejecución y el cateter de silicona es una opción eficiente, de bajo costo, para estudiar el espacio epidural en ratas.

REFERÊNCIAS

1. Tuohy E B - Continuous spinal anesthesia: a new method utilizing a ureteral catheter. *Surg Clin N Amer* 1945;834-840.
2. Curbelo M M. Continuous peridural segmental anesthesia by means of ureteral catheter. *Curr Researches Anesth Analg* 1949; 28:13-23.
3. Bromage P R - Medicamentos e Instrumental. *In: Analgesia Epidural*. São Paulo: Manole, 1980:271-332.
4. Yaksh T L, Rudy T A - Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Anesthesiol Behav* 1976 b; 17:1031-6.
5. Pert C B, Snyder S H - Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 1973; 179:1011-4.
6. Terenius L. Stereospecific interaction between narcotic analgesia and synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. *Acta Pharmacol Toxicol* 1973; 32:317-20.
7. Yaksh T L, Rudy T A - Studies on the direct spinal action of narcotics in the production of analgesia in the rat. *J Pharmacol Exp Therap* 1977; 202: 411-28.
8. Van den Hoogen R H W M, Colpaert F C - Long term catheterization of the lumbar epidural space in rats, *Pharmacol Biochem Behav* 1981; 15:515-6.
9. Bahar M, Rosen M, Vickers M D - Chronic cannulation of the intramural or extramural space in the rat. *Br J Anaesth* 1984; 56:405-10.
10. Durant P A C, Yaksh T L - Epidural injections of bupivacaine, morphine, fentanyl, lofentanyl and DADL in chronically implanted rats: a pharmacology and pathology study. *Anesthesiology* 1986; 64:43-53.
11. Costa M L C, Freire A M, Gozzani J L et al - Uso da técnica de Durant-Yaksh para cateterização epidural em ratos. *Acta Cirurg Bras* 1989; 4:22-3.
12. Costa M L C, Gozzani J L, Stavale J N et al - Peridural lombar em rato: estudo comparativo com cateteres de diferentes flexibilidades. *Rev Bras Anest* 1989; 39: CBA 165.
13. Janssen P A J, Niemegeers C J E, Dony J G H - The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats. *Arzn- Fsrch* 1963; 13:502-7.
14. Hebel R, Stromberg M W - Osteology. *In: Anatomy and embryology of the laboratory rat*. Baltimore: Williams & Wilkins 1986:13-20.
15. Du Pen S L, Peterson D, Bogossian A, Ramsey D - A new silicone rubber epidural catheter for narcotic administration to terminal cancer patients. *Anesthesiology* 1986; 65: A 195.