

# Estudo anatômico de pequenos vasos com corante radiopaco

*Small vessels study using a radiopaque dye*

FÁBIO RICHIERI HANANIA<sup>1</sup>, MAURÍCIO MASASI IAMAGUCHI<sup>2</sup>, MARCELO ROSA DE REZENDE<sup>3</sup>

## RESUMO

A proposta do nosso trabalho consiste no estudo de um novo corante que, além de permitir o estudo macroscópico de pequenos vasos – seguindo a pesquisa pioneira de Salmon<sup>(3)</sup> –, possibilita o estudo radiológico por ser uma solução radiopaca. Para tanto foram utilizados 10 ratos e cateterizadas suas aortas abdominais para a injeção do corante no sentido da periferia, acompanhando o seu fluxo pela artéria femoral esquerda (a direita foi cauterizada). Os resultados de sua utilização na artéria femoral de rato mostraram tratar-se de uma solução com boa capacidade de penetração em vasos extremamente pequenos e que permite a dissecção sem que haja extravasamento do corante. Tendo em vista os resultados obtidos em ratos, acreditamos que o corante reúne os quesitos necessários para o estudo de detalhes da anatomia vascular.

**Palavras-chave:** Corante; vascular; anatomia

## INTRODUÇÃO

O estudo de detalhes da anatomia vascular requer o uso de corantes que, entre outras qualidades, tenham boa penetração; permitam boa visualização; sejam radiopacos (permitindo o estudo radiológico); e possam apresentar solidificação para que não haja o extravasamento do contraste.

A utilização de corantes e contrastes para estudos de anatomia vascular foi feita pioneiramente por Salmon<sup>(3)</sup>, feito que gerou grande avanço nos estudos de vascularização do corpo. Posteriormente a preparação de Salmon<sup>(3)</sup> foi modificada por Rees e Taylor<sup>(2)</sup>, em cujo experimento foi usado óxido de chumbo para contraste, porém estes nunca combinaram corante e contraste em uma só mistura. Peden, Robinson e Rohrich<sup>(1)</sup> conseguiram com sucesso esse feito; no entanto, o difícil acesso aos componentes do corante torna difícil e relativamente onerosa a sua preparação no Brasil.

## SUMMARY

The purpose of our research consists of studying a new dye which, besides allowing the macroscopic study of small vessels – following the pioneer research of Salmon<sup>(3)</sup> –, permits the radiographic study due to its radiopacity. To do so, ten rats were utilized and their abdominal aorta was catheterized for the injection of the dye towards the periphery, being the flow of the dye observed along the left femoral artery (the right one was cauterized for occlusion). The results of this injection revealed that the dye penetrates well in extremely small vessels and allows dissection without extravasations. Thus, we believe that this dye has the necessary requirements for the study of details of the vascular anatomy.

**Key words:** Dye; vascular; anatomy

## INTRODUCTION

The study of details of vascular anatomy demands the use of dyes which, among other qualities, have also good penetration, allow a good visualization, are radiopaque (allowing radiological study) and can present solidification, in order not to prevent dye leaking.

The use of dye and contrasts for vascular anatomical studies was pioneered by Salmon<sup>(3)</sup>, what lead to great advance in studies on body blood vessels. Later, the preparation by Salmon<sup>(3)</sup> was modified by Rees and Taylor<sup>(2)</sup> using in their experiment lead oxide for contrast, however never combining both dye and contrast in a same mixture. Peden, Robinson and Rohrich<sup>(1)</sup> succeeded in doing so; however, the difficulty to access dye components makes difficult and expensive its preparation in Brazil.

**Trabalho realizado no Laboratório Rotary de Microcirurgia Reconstrutiva do Centro de Treinamento do IOT do Hospital das Clínicas - FMUSP**

1- Acadêmico do 4º ano da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
2- Acadêmico do 4º ano da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
3- Mestre pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

**Endereço para correspondência:** Rua Rocinha, 22 - Saúde - São Paulo - SP  
CEP: 04127-030 - Email: fabio\_rh@yahoo.com.br

**Work performed at Rotary Microsurgery Lab. from Training Center of IOT do Hospital das Clínicas - FMUSP**

1- 4<sup>th</sup>. year student, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
2- 4<sup>th</sup>. year student, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
3- Master/Chairman, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

**Address:** Rua Rocinha, 22 - Saúde - São Paulo - SP - CEP: 04127-030  
Email: fabio\_rh@yahoo.com.br

As dificuldades acima mencionadas, como o alto custo e o difícil acesso aos corantes, foram o que nos motivou a desenvolver um novo corante. Desta forma, preparamos uma solução de baixo custo, com componentes de fácil acessibilidade (devido ao uso comercial ou industrial).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Corante

O produto estudado foi preparado com as seguintes substâncias: acetona pura (100%), óxido de chumbo em pó (Letargirio®), resina de vinil (Vinilitâ), corante azul (tinta) à base de thinner. Os componentes do corante são todos de uso industrial, portanto de fácil aquisição. Inicialmente é preparada uma solução que não contém óxido de chumbo, sendo imperativo, entretanto, que tenha 40% de acetona, garantindo assim a fluidez necessária. A solução não foi misturada ao óxido de chumbo antes do início do preparo do rato, porque a acetona é muito volátil e a mistura sedimenta-se facilmente, o que alteraria a composição do corante durante o tempo do procedimento.

### Materiais

Para a metodologia foram utilizados: o corante acima mencionado, 10 ratos, catéter de 0.7 por 19mm, pinça anatômica, pinças de joalheiro, tesouras, bisturi, um microscópio para microcirurgia, máquina fotográfica e outros.

### Ratos

Os ratos utilizados eram da raça Wistar, pesavam aproximadamente 250gramas e foram obtidos no Laboratório Rotary de Microcirurgia Reconstitutiva do Centro de Treinamento do IOT-FMUSP (Instituto de Ortopedia e Traumatologia – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo), local onde foi realizado o estudo.

### Radiografia

Para as radiografias foi utilizado um aparelho Toshiba, com as seguintes especificações: Foco=100, Kv=35 e Tempo=0,03s.

### Método

Para testar as qualidades do corante foi escolhido um local para a observação dos vasos. Foram estudados a aorta abdominal, a artéria caudal, as artérias ilíacas comuns e seus ramos, principalmente a parte ventral do membro posterior esquerdo do rato, após a trifurcação da artéria femoral nas artérias tibial anterior, tibial posterior e fibular.

Inicialmente a parede abdominal do rato foi rebatida de modo a expor suas vísceras; estas foram rebatidas para a esquerda do rato expondo a veia cava inferior, a aorta abdominal e as artérias ilíacas comuns.

A artéria ilíaca comum direita foi dissecada para posterior ligadura. A aorta também foi dissecada para posterior ligadura (da porção proximal à cateterização) e cateterização da parte abdominal.

The difficulties above mentioned, as high cost and difficult access to dyes, motivated us to develop a new dye. Thus, we prepared a low cost solution with easily accessible components (due to commercial and industrial use).

## MATERIALS AND METHODS

### Dye

The studied product was prepared with the following substances: pure acetone (100%), powder lead oxide (Letargirio®), vinyl gum (Vinilitâ), blue thinner based ink.

All components of the dye are of industrial use, so, easy to purchase. It is initially prepared as a solution without lead oxide, being however imperative to have 40% of acetone to warrant the necessary fluidity. The solution was not mixed to lead oxide before the preparation of the rat, because acetone is very much volatile and the mixture easily forms sediment, what would alter dye composition during the time of the procedure.

### Materials

For this method were used: the above mentioned dye, 10 rats, a catheter of 0.7 x 19 mm, anatomical forceps, jeweler forceps, scalpel, a microsurgery microscope, photograph machine and others.

### Rats

The used rats were of Wistar strain, weighting approximately 250 g and obtained from the Rotary Reconstructive Microsurgery Lab. from the Centro de Treinamento do IOT-FMUSP (Instituto de Ortopedia e Traumatologia – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo), where the study was performed.

### Radiography

For the radiographic examinations it was used an equipment Toshiba, with the following specifications: Focus=100, Kv=35 e Time=0,03s.

### Method

In order to test the qualities of the dye it was chosen a place of observation of the vessels. Were studied the abdominal aorta, the caudal artery, the common iliac arteries and their branches, mainly the ventral part of the posterior rat limb after the trifurcation of the femoral artery into anterior tibial, posterior tibial and fibular arteries.

Beginning, the abdominal wall of the rat was retracted in order to expose its viscera which were retracted leftwards, exposing the inferior cava vein, the abdominal aorta and the common iliac arteries.

The common right iliac artery was dissected for later binding. The aorta was dissected as well for later binding (of the proximal

Um catéter de 0.7 por 19mm foi introduzido na aorta no sentido da periferia. Um corte na face ventral do membro posterior foi realizado de modo a expor suas artérias. Foi injetado pelo catéter 1 ml de soro fisiológico para a limpeza dos vasos. Apesar desse momento o corante (com 40% acetona) foi misturado com o óxido de chumbo em um recipiente com um bastão na proporção de 6/1 (seis partes de corante para uma parte de óxido de chumbo). Após misturar bem, foi injetada pelo catéter pequena quantidade da mistura (cerca de 1 ml), tomando-se o devido cuidado para não injetar bolhas de ar na circulação, o que comprometeria a visualização dos vasos e causaria maior resistência à perfusão do corante. As artérias do membro posterior puderam então ser observadas (fig 1).

Após um período de aproximadamente 5 minutos o corante endurece, mas não fica quebradiço - ele fica flexível, com aspecto plástico (fig 2 – a parede da porção distal da aorta e das porções proximais das ilíacas comuns foi retirada, mostrando que o corante solidifica, adquirindo o formato da luz do vaso). A partir daí foram tiradas radiografias do membro posterior do rato (fig 3) que mostram os vasos com alta precisão, e suas artérias foram posteriormente dissecadas para melhor visualização.

Precauções adequadas foram tomadas para evitar intoxicação com o óxido de chumbo, como o uso de luvas e máscaras no procedimento.

## RESULTADOS

O corante mostrou-se fluido o suficiente para atingir a artéria da cauda do rato e ramos extremamente finos das artérias do membro posterior. Após cerca de cinco minutos, o corante já adquire uma consistência viscosa, permitindo a dissecção sem extravasamento para os tecidos adjacentes. É também digno de nota o excelente contraste radiológico obtido com o PbO, que permite a observação acurada dos vasos nas radiografias (fig 4 – detalhe de um pequeno vaso em que o corante penetrou).

## DISCUSSÃO

Com o advento da Microcirurgia Vascular na década de 60, houve um aumento significativo do interesse em se estudar os detalhes da circulação de diversos componentes do corpo humano, tornando de extrema importância o estudo da anatomia vascular em cadáveres. A maioria dos corantes disponíveis no



**Figura 1 - Aspecto do membro posterior do rato dissecado após a injeção do corante.**

**Figure 1 - Aspect of the posterior limb of the rat, dissected after injection of dye.**



**Figura 2 - Dissecção da parede da aorta, em sua bifurcação, mostrando o aspecto plástico do corante.**

**Figure 2 - Dissection of the wall of aorta at its bifurcation, displaying the plastic aspect of the dye.**

portion of catheterization) and the abdominal part catheterized.

A catheter of 0.7 x 19 mm was introduced into aorta towards periphery. An incision at the ventral aspect of posterior limb was performed in order to expose its arteries. It was injected through the catheter 1 ml of saline solution for cleaning of the vessels. Only at this moment the dye (with 40% of acetone) was mixed to lead oxide in a recipient with a stick in a proportion of 6/1 (six parts of dye for one par of lead oxide). After mixing well, it was injected through the catheter a small amount of the mixture (about 1 ml), carefully avoiding to inject air bubbles into the circulation, since this would prejudice viewing the vessels and would cause higher resistance to perfusion by the dye. The posterior limb arteries could then be observed (fig. 1).

After a period of about 5 minutes the dye hardens, however does not becomes brittle – remains flexible, with a plastic aspect (fig. 2 – the wall of distal portion of the aorta and the proximal portions of common iliac arteries were removed, demonstrating that the dye hardens, molding the inner face of the vessels). From this, radiographs were taken of the posterior limb of the rat (fig. 3) demonstrating the vessels with high precision, and their arteries were after dissected for better observation.

Due precautions were taken in order to avoid lead intoxication, such as the use of gloves and masks during the procedure.

## RESULTS

The dye proven to be fluid enough to reach the artery of the tail of the rat, and extremely thin branches of arteries of the posterior limb. After about five minutes, the dye reaches a viscous consistency, allowing dissection without leaking to adjacent tissues. It is also worthy to notice the excellent radiographic contrast obtained with PbO, allowing an accurate observation of the vessels in the radiographs (fig 4 – detail of a small vessel the dye entered in).

## DISCUSSION

With arrival of Vascular Microsurgery in the sixties, a significant increase in the interest on study of details of several parts of human body circulation emerged, making extremely important the study of vascular anatomy in cadavers. Most of

mercado não se adequam a esse estudo, ou por terem uma coloração fraca, ou por não permitirem o estudo radiológico dos vasos. Com o nosso corante, procuramos associar essas duas características, com base no experimento feito por Salmon<sup>(3)</sup>. Conseguimos um corante com coloração intensa, e que permitiu a observação radiográfica de vasos com calibres de até 0,1 mm. Além disso, existe uma dificuldade nacional de obtenção dos contrastes já existentes, ou por serem estes de difícil acesso no nosso mercado, ou por apresentarem custo muito elevado; isso posto, procuramos eliminar essas dificuldades, bem como desenvolver um corante de fácil preparo. Assim, acreditamos que nossa solução preenche todas as especificações necessárias para ser considerada um bom corante para o estudo da anatomia vascular humana.

## CONCLUSÃO

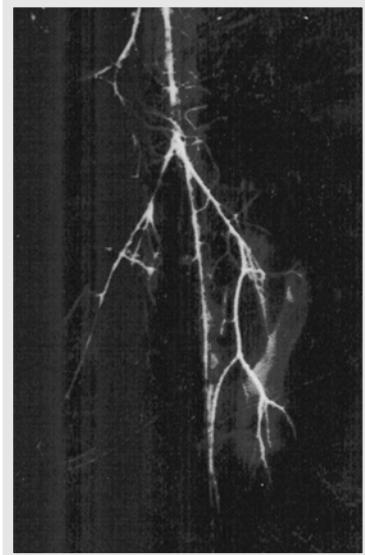
As qualidades necessárias foram alcançadas. O preparo mostrou ser de fácil injeção, permitindo boa visualização tanto para fotografias como para radiografias, além de penetrar até nos mais finos vasos (diâmetros de até ~0.1mm). Além disso, é notável o seu baixo custo, o que possibilita a utilização deste corante de forma bastante eficaz para o estudo da anatomia vascular humana.

## OBSERVAÇÕES FINAIS

- Não foram criados para este projeto quadros, tabelas, ilustrações ou diagramas. Existem, além do texto, apenas fotografias.

- Nenhum animal foi sacrificado com o único propósito da realização deste estudo, tendo sido utilizados animais recém-sacrificados pelos treinandos do Laboratório Rotary de Microcirurgia Reconstrutiva do IOT-FMUSP, que seriam desprezados.

- O laboratório, então representado pelo próprio orientador Dr. Marcelo Rosa de Rezende, aprovou e incentivou a realização deste estudo.



**Figura 3 - Radiografia do rato.**  
Observe a riqueza de detalhes das artérias.

**Figure 3 - Radiograph of a rat.**  
Observe the richness of details of the arteries.



**Figura 4 - Detalhe de um pequeno vaso penetrado pelo corante.**

**Figure 4 - Detail of a small vessel penetrated by the dye.**

the marketed dyes are not suitable for this study due to weak staining or due to not allowing the radiological study of the vessels. With our dye, we looked for an association of both characteristics, based on the experiments by Salmon<sup>(3)</sup>. We obtained a dye with intensive staining, which allowed the radiographic observation of vessels as thin as 0,1 mm. Additionally, there is a national difficulty in obtaining already existing contrasts, whether because they are hardly accessible in our local market, or due to an excessive cost; thus, we looked for eliminating these difficulties, as well as to develop a dye easy to prepare. So, we believe that our solution fulfills all necessary specifications to be considered a good dye for the study of human vascular anatomy.

## CONCLUSÃO

The necessary qualities were reached. The preparation was demonstrated to be easy to inject, allowing a good observation both for photographs and radiographs, besides of penetrating the thinner vessels (diameters up to ~ 0.1 mm). Besides this, it is important to notice its low cost, allowing the use of this dye in a very efficacious way for studying the human vascular anatomy.

## FINAL REMARKS

- We create for this project no boards, tables, illustrations or diagrams. It consists only of text and photographs.

- No animal was sacrificed solely for the purpose of performing this study. Instead, animals just sacrificed by trainees from the Rotary Reconstructive Microsurgery Lab. of the IOT-FMUSP, which would be discharged, were used.

- The lab, represented by the instructor Dr. Marcelo Rosa de Rezende, approved and encouraged this study to be performed.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Peden, E.K., Robinson, J.B. Jr., Rohrich, R.J.: An improved injection system for vascular anatomical studies having dual radiopacity and visualization capabilities. *Ann Plast Surg* 32(4): 407-410, 1994.
2. Rees, M.J., Taylor, G.I.: A simplified lead oxide cadaver injection technique. *Plast Reconstr Surg* 77: 141-145, 1986.
3. Salmon, M.: *Artères de la peau: étude anatomique et chirurgicale*, Paris, Masson, 1936.