

Roberto Gomes de Carvalho  
Robin Mário Hofmeister  
Edison José Ribeiro  
Paulo Roberto Brofman  
Danton R. da Rocha Loures  
Flávio Suplicy de Lacerda Jr.  
Gastão Pereira da Cunha

## MICROSCOPIA ELETRÔNICA: PARADA CARDÍACA ANÓXICA HIPOTÉRMICA (30°C) E CARDIOPLEGIA

*Estudos feitos mostram que a anóxia leva a alterações celulares, principalmente nos mitocôndrios. Para se evitar tal fato, é preciso que se proteja o miocárdio contra a anóxia. Vários métodos têm sido descritos, mas os mais utilizados são a parada anóxica hipotérmica e a parada cardíaca química (cardioplégica).*

*Os autores estudaram dois grupos de pacientes: grupo A, formado por 4 pacientes, nos quais foi utilizada a parada cardíaca anóxica hipotérmica e grupo B, constituído de 5 pacientes, onde foi empregada a parada cardíaca química, ou seja, cardioplégica.*

*As alterações foram observadas em músculo cardíaco (área anterior de ventrículo esquerdo). A amostra foi retirada antes e após 60 min do término da circulação extracorpórea.*

*A análise dos resultados possibilitou as seguintes conclusões: 1) alterações como rotura das cristas mitocondriais e perda da integridade do mitocôndrio mais evidentes no grupo A; 2) dano miocárdico grave no grupo A e leve no grupo B; 3) microscopia eletrônica foi útil na avaliação da ultra-estrutura; 4) solução cardioplégica preservou o miocárdio humano sob aspecto morfológico e clínico.*

Com o advento e melhor conhecimento da fisiologia da circulação extracorpórea e o uso de oxigenadores aperfeiçoados, foi possível aumentar o tempo em que o paciente pode ser mantido no sistema coração-pulmão artificial com segurança cada vez maior.

Para que a cirurgia cardíaca possa ser realizada com facilidade e precisão, é desejável que o campo cirúrgico fique livre de sangue e que o coração fique vazio, se possível, flácido.

O método mais simples para se conseguir esses benefícios é o pinçamento da aorta, levando o coração à parada por anóxia.

Apesar do valor do método, pela sua simplicidade, vários autores 1-15, observaram que a anóxia leva a alterações de ultra-estrutura das miofibrilas e principalmente dos mitocôndrios.

Alguns autores 1,3,5,15,16 verificaram que a primeira estrutura a se alterar a nível celular é o mitocôndrio. Balibrea e col. <sup>1</sup> submeteram 5 cães em regime de anóxia e notaram que, após 30 minutos, havia edema dos sarcotúbulos e os mitocôndrios estavam arredondados e edemaciados. A matriz mitocondrial, estava mais clara assim como as cristas mitocondriais. Após 60 minutos de anóxia, as modificações nos mitocôndrios eram mais evidentes como: rotura e perda das cristas, degeneração lamelar do mitocôndrio e

rotura da membrana externa do mesmo.

Berkaloff <sup>17</sup> descreveu que o mitocôndrio possui matriz densa, com alguns grânulos mitocondriais e cristas que se formam a partir da membrana interna e a membrana externa faz trocas iônicas com o retículo endoplasmático. Nas cristas estão localizadas as partículas elementares, responsáveis pelo metabolismo aeróbio do mitocôndrio (cadeia respiratória) Para a transformação da adenosina difosfato (ADP) em adenosina trifosfato (ATP) é necessária a presença de moléculas de oxigênio (O<sub>2</sub>), além de outras substâncias. O ATP é a fonte de energia para a contração muscular, onde há o deslizamento do miofilamento fino (actina) sobre o miofilamento grosso (miosina). Na ausência de O<sub>2</sub>, o metabolismo é anaeróbio e o produto final é o ácido láctico (fermentação).

Mazza e col. <sup>18</sup> estudaram pacientes submetidos à correção cirúrgica de diversas cardiopatias congênitas, em que utilizaram a parada cardíaca anóxica. Observaram que os mitocôndrios se alteraram em diversas formas. A partir destas modificações descreveram 6 tipos: a) edema discreto com preservação da estrutura; b) perda dos grânulos mitocondriais; c) clareamento localizado da matriz; d) clareamento to-

tal da matriz; e) degeneração mielínica; f) condensação uniforme da matriz.

Em 1966, Kottmeier e Wheat<sup>11</sup>, em estudos realizados em cães, demonstraram 5 tipos de alterações mitocondriais: a) clareamento da matriz com fragmentação das cristas; b) perda dos grânulos mitocondriais; c) degeneração lamelar das cristas; d) degeneração granular; e) formação condosférica. Os autores afirmam ser o mitocôndrio a organela mais importante, porque é a primeira a sofrer alterações e também a responsável pela produção de energia para a contração do complexo actina miosina.

Flameng e col.<sup>19</sup>, analisando 21 pacientes submetidos à substituição valvar, descreveram avaliação semiquantitativa das alterações mitocondriais ou seja: a) normal; b) normal e estrutura da matriz e cristas, mas ausência de grânulos de depósito; c) perda dos grânulos da matriz e clareamento da mesma, mas com conservação das cristas; d) perda dos grânulos da matriz e clareamento uniforme da mesma e rotura das cristas; e) perda dos grânulos da matriz, rotura das cristas e perda da integridade do mitocôndrio.

Além do mitocôndrio, outras estruturas se alteram com a anóxia miocárdica. As miofibrilas perdem seu alinhamento. As bandas Z são irregulares e em alguns casos mais eletrodensas e espessas. Às vezes, por haver hipercontração das bandas, alteração descrita por Engedal e col.<sup>10</sup>. Em contrapartida, Olmesdahl e col.<sup>20</sup> relataram que estas bandas contraídas seriam artefatos.

Outro elemento a se alterar é a cromatina nuclear, que pode estar marginada e/ou agrupada<sup>2,5,8,16,21,22</sup>. Essas alterações nucleares são freqüentes quando a anóxia é mais prolongada.

Em 1973, Gomes e col.<sup>14</sup> descreveram que a dilatação dos sarcotúbulos (sistema T) já é sinal de lesão da ultra-estrutura, assim como o aumento do espaço do sarcoplasma, traduzindo edema celular.

A diminuição ou ausência dos grânulos de glicogênio indica alteração celular produzida pela anóxia. Mas Ferrans<sup>23</sup> observou que o uso do tampão fosfato é melhor que o cacodilato, tendo em vista que o primeiro é melhor corado com solução de citrato de chumbo. Esse fato também foi observado por Engedal<sup>10</sup>.

Além das alterações morfológicas, alguns autores relacionaram com distúrbios metabólicos e enzimáticos<sup>9,13,22,24</sup> função miocárdica<sup>3,8,10,11</sup>, dosagens de adenosina trifosfato (ATP)<sup>21</sup>. Lamberti e col.<sup>25</sup> relacionaram a ultra-estrutura com elevação do segmento S-T. Verificou-se que esses estudos estavam relacionados com a integridade das células a nível subcelular.

Todas as alterações descritas ocorreram com parada cardíaca anóxica normotérmica. Esse procedimento foi utilizado por tempos cada vez mais longos, chegando até a 90 min. Observou-se que, nos atos cirúrgicos mais prolongados, nas associações de entidades cardíacas, na função ventricular esquerda comprometida, os resultados eram desastrosos com aumento da síndrome de baixo débito cardíaco e da mortalidade<sup>26</sup>. Para diminuir as complica-

ções decorrem da anóxia induzida pelo clameamento aórtico, vários métodos foram introduzidos, como: perfusão das artérias coronárias com sangue em normotermia ou hipotermia, perfusão das artérias coronárias períodos intermitentes com pressão sistêmica ou baixa pressão, hipotermia geral moderada, hipotermia profunda, fibrilação ventricular induzida, parada cardíaca anóxica intermitente com períodos de reperfusão e parada cardíaca química.

Alguns desses métodos não são mais empregados por serem deletérios ao miocárdio. A perfusão das artérias coronárias necessita de cateterização dos óstios coronários. Esta manobra pode lesar a íntima do vaso, ou mesmo perfundir uma só artéria que às vezes pode não ser dominante<sup>27</sup>. Na fibrilação ventricular induzi não há distribuição equitativa do sangue e todo o miocárdio, principalmente na zona subendocárdica, onde é maior a resistência arteriolar ao fluxo sanguíneo coronário. Este quadro se agrava nos corações com hipertrofia ventricular esquerda ou na presença de arteriosclerose coronária<sup>28</sup>.

Um método ainda utilizado é a hipotermia geral moderada a 30.°C, associada a períodos curtos de parada cardíaca anóxica (10 a 15 min.).

Em algumas situações é impossível empregar tal método, tendo em vista a necessidade do clameamento mais prolongado da aorta. Em 1955, Melrose e col.<sup>22</sup> utilizaram o citrato de potássio na raiz da aorta, para induzir a parada cardíaca. Essa técnica foi alvo de vários conflitos e ficou abandonada por muitos anos. Em 1973, Gay e Ebert<sup>29</sup> empregaram-na novamente, sendo que a droga utilizada foi cloreto de potássio. Sob aspecto experimental, esse método levou a bons resultados.

Alguns autores<sup>1,30-48</sup> observaram bons resultados com o emprego da solução cardioplégica.

Segundo Berkloff<sup>17</sup>, o fornecimento de energia para a contração muscular é dada pela adenosina trifosfato (ATP). Uma molécula de glicose, através do metabolismo aeróbio, irá produzir 36 moléculas de ATP, e através do metabolismo anaeróbio produzirá apenas duas moléculas de ATP. Em casos de importante e prolongada isquemia, há interferência de alguns fatores como: a) substrato inadequado (glicose e glicogênio); b) acúmulo de lactato; c) pH inapropriado; d) inibição de algumas enzimas como a fosfofrutoquinase.

Buckberg<sup>45</sup> relatou que o consumo de energia está diretamente relacionado ao: 1) acoplamento eletromecânico; 2) tensão intramiocárdica e 3) temperatura do miocárdio. A hipotermia diminui a energia para o acoplamento eletromecânico. Por exemplo: à temperatura 37.°C é necessário 1 ml de O<sub>2</sub> para cada 100 g de ventrículo esquerdo por minuto, e a 22.° C quantidade de O<sub>2</sub> para 100 g de ventrículo na unidade de tempo é 0,3 ml.<sup>2</sup>

Quando a parada se dá por anóxia o trabalho eletromecânico esgota todas as energias. Um pouco dessa energia é utilizada na bomba sódio e potássio, para manter esse último íon no compartimento intracelular.

A falta de suprimento sanguíneo leva à isquemia e em virtude de tal fato não há O<sub>2</sub> im-

pedindo a forma de ATP. Nessas circunstâncias, ocorrerá falta de energia e na ausência de  $O_2$ , pelo processo de fermentação, o piruvato é convertido em ácido láctico. Com a presença do íon láctico, haverá diminuição do pH intracelular. A acidose intracelular levará à inibição das enzimas, bloqueando a transformação do ADP em ATP.

Os íons de sódio ( $Na^+$ ), potássio ( $K^+$ ), cálcio ( $Ca^{++}$ ) e magnésio ( $Mg^{++}$ ) jogam importante papel na isquemia miocárdica. A bomba de  $Na^+$  é responsável pela regulação do volume celular. Em caso de entrada maior de  $Na^+$  ocorrerá edema intracelular. Se a concentração do gradiente de potássio intracelular com o extracelular ( $K^+_{ic}/K^+_{ec}$ ) estiver diminuindo, haverá parada dos batimentos cardíacos pela despolarização da membrana. O íon  $Ca^{++}$  é responsável pela contração muscular. Em caso de hipercalcemia intracelular ocorrerá maior atividade de acoplamento eletromecânico, com maior gasto de energia. O  $Mg^{++}$  está relacionado com a "respiração celular". Se os índices forem baixos no espaço intracelular, haverá menor metabolismo aeróbico da fibra miocárdica.

Basicamente, a importância da solução cardioplégica hiperpotássica é a indução da parada cardíaca instantânea do coração em diástole por despolarização rápida da membrana celular. Conseqüentemente, não haverá gasto de energia, permanecendo o miocárdio com boa reserva para a sua recuperação após a isquemia. A baixa temperatura da solução cardioplégica é outro fator básico, de vez que diminui o consumo de oxigênio pela diminuição do metabolismo celular.

Ainda não há uma solução cardioplégica definida, Ellis e col.<sup>33</sup> e Tucker e col.<sup>16</sup> relataram que não há diferença quanto à quantidade de potássio, mas consideraram a importância da hipotermia.

Robert e col.<sup>37</sup>, Heydorn e col.<sup>43</sup> Ellis e col.<sup>4</sup> e Engelman e col.<sup>39</sup> observaram que as soluções contendo doses hiperpotássicas protegem melhor o miocárdio. Gharagozloo e col.<sup>31</sup> em experiência realizada em ratos, observaram que a melhor proteção ocorre em dosagens de 24 a 34 mEq/l de potássio. Neste estudo, os autores utilizaram doses de até 200 mEq/l de potássio.

Fogliá e col.<sup>49</sup> e Heydorn e col.<sup>45</sup> chamam a atenção para a osmolaridade da solução, relatando que a mesma deve ser hiperosmolar. Nessa concentração evitaria o edema celular.

Vários autores<sup>23,31,35,38,47,50,51</sup> relatam os resultados das experiências com solução cardioplégica associada a estudos da ultra-estrutura do miocárdio mas a maior parte destas análises são realizadas em animais, sendo poucos os estudos em corações humanos<sup>12,47,50</sup>. Na literatura nacional Gomes e col.<sup>14</sup>, em atualização sobre cardioplegia, descreveram noções ultra-estruturais, bioquímicas e farmacodinâmicas. Gomes desenvolveu estudos experimentais sobre ultra-estrutura do miocárdio, após parada anóxica<sup>24</sup> e associada à parada hipotérmica a 20°C<sup>13</sup>.

No presente estudo procurou-se analisar as alterações ultra-estruturais produzidas pela parada cardíaca anóxica hipotérmica a 30°C, bem como a influência da solução cardioplégica hiperpotássica e hipotérmica sobre o

miocárdio humano, sendo o primeiro da literatura brasileira.

## CASUÍSTICA E MÉTODO

No Hospital Evangélico de Curitiba, foram estudados pacientes portadores de cardiopatias submetidos à correção cirúrgica com o auxílio de circulação extracorpórea.

Os doentes foram divididos em 2 grupos: grupo A - constituído de 4 pacientes, nos quais a parada cardíaca anóxica foi utilizada sob hipotermia moderada a 30°C e grupo B - forma do por 5 pacientes, nos quais além da parada cardíaca anóxica hipotérmica a 30°C, utilizou-se a solução hiperpotássica, hipotérmica a 41°C (solução cardioplégica).

Em ambos os grupos, foi colhido material para estudo da ultra-estrutura, antes de se iniciar a circulação extracorpórea e após 60 minutos do término da mesma.

Não houve qualquer seleção prévia de pacientes para este estudo e os casos foram escolhidos inteiramente ao acaso.

As idades dos pacientes no grupo A variaram de 8 a 73 anos (média 35,2) e no grupo B, de 14 a 63 anos (média 46,6).

No grupo A, 3 pacientes (75%) eram do sexo masculino e 1 (25%) do sexo feminino (tab. I) e no grupo B, 3 pacientes (60%) eram do sexo masculino e 2 (40%) do sexo feminino. Todos os pacientes (100%) eram da raça branca (tab. I).

Os diagnósticos pré-operatórios dos pacientes do grupo A e do grupo B estão reunidos na tabela II.

**Tabela I - Dados referentes aos indivíduos que compoem a casuística.**

Grupo A (Parada cardíaca hipotérmica 30°C)				
N.º	Iniciais	Idade	Sexo	Cor
1	L.C.L.	20	M	Br
2	H.F.B.	73	M	Br
3	H.R.S	9	F	Br
4	J.M.O.	39	M	Br
Grupo B (Parada cardíaca cardioplégica)				
N.º	Iniciais	Idade	Sexo	Cor
	M.R.L.	14	F	Br
	H.C.R.	43	M	Br
	J.G.	63	M	Br
	R.C.R.	50	F	Br
	O.R.F.	63	M	Br

M = masculino; F = feminino; Br = raça branca

Em todos os pacientes a indução pré-anestésica foi realizada com: pentobarbital, 3 mg/kg de peso corporal, no máximo de 100 mg por via oral, duas horas antes da intervenção; petidina, 2 mg/kg de peso corporal, no máximo de 100 mg por via intramuscular, uma hora antes

da intervenção, associada à prometazina, 1 mg/kg de peso corporal, no máximo de 50 mg e à atropina de 0,25 de mg a 0,5 mg, na hora da indução.

**Tabela II - Diagnóstico e tipo de cirurgia nos 2 grupos.**

Grupo A (Parada cardíaca hipotérmica 30°C)			
N.º	Diagnóstico	Data op.	Operação
1	IAo	29.8.79	Prótese de Lillehei-Kaster n.º 22 A
2	ICo	05-9-79	Ponte de safena Ao - descendente anterior + Ao - coronária direita
3	T.F.	21.9.79	Correção total c/ ampliação de via de saída de ventrículo direito
4	DLAo	22.5.80	Prótese de Omniscience n.º 18 A
Grupo B (Parada cardíaca cardioplégica)			
1	IM+IT	05.5.80	Prótese de Ionescu Shiley n.º 27 em posição mitral
2	ICo	10.6.80	Ponte de safena Ao - descendente anterior + 1.º ramo diagonal
3	ICo (TCE)	10.6.80	Ponte de safena Ao - descendente anterior + 1.º ramo diagonal
4	ICo	23.6.80	Ponte de safena Ao - circunflexa + Ao - coronária direita
5	ICo	04.7.80	Ponte de safena Ao - descendente anterior (2) + 1.º ramo diagonal

IAo = insuficiência aórtica; ICo = Insuficiência coronária; TF = Tetrade de Fallot; DLAo = dupla lesão aórtica; IM+IT = insuficiência mitral com insuficiência tricúspide funcional; ICo = insuficiência coronária; TCE = tronco de artéria coronária esquerda; OP = operação; Ao = aorta.

A indução e manutenção da anestesia foi realizada com tiopental sódico (Thionembutal), por via venosa, em solução de 2,5%. Após relaxamento muscular completo, obtido com sucinilcolina a 1% na dose de 1,5 mg/kg de peso corporal, por via venosa, a respiração passou a ser controlada com respirador de volume marca Monaghan 300. A anestesia foi mantida com bromoclorotrifluoretano (Fluotane), administrado através de vaporizador. Durante a circulação extracorpórea, os pulmões permaneceram inativos e desinsuflados, e a anestesia se manteve com tiopental sódico, na dose aproximada, de 2 mg/kg de peso corporal e com pancuronium, na dose 0,05 a 0,10 mg/kg de peso corporal para continuação do relaxamento muscular.

Após a instalação da circulação extracorpórea utilizando-se oxigenador descartável (Macchi-Jatene), a temperatura do paciente atingiu até 29°-30°C. Em caso de revascularização do miocárdio, a veia safena foi retirada da coxa esquerda e preparada com máximo cuidado, e levantou-se o interior da mesma com sangue heparinizado e com pressão não superior a 100 mm Hg, para evitar possível lesão interna.

Nos pacientes do grupo A, a reperfusão coronária foi empregada quando possível. No caso 2 as anastomoses distais foram realizadas, intercalando-se com as proximais.

No grupo B, estando o paciente com desvio circulatório total, a temperatura retal atingindo 30°C, a ventilação pulmonar foi interrompida. Realizada sutura em bolsa com fio monofilamentado n.º 4-0 na raiz da aorta, passando através de tubo de borracha, e introduzida cânula de plástico n.º 12 e conectada ao terceiro aspirador do sistema coração-pulmão artificial. Em circuito com esse aspirador, foi introduzido por inversão da bomba de rolete, a solução, cardioplégica, sob a pressão de 150 mm Hg. Essa manobra foi realizada logo após o clameamento aórtico.

A solução cardioplégica não retornava ao oxigenador, pois era retirada do campo operatório através de aspirador externo, introduzindo no átrio direito após a atriectomia, com bisturi lâmina n.º 11.

A média de volume injetado foi de 600 ml (10 ml/kg). Doses adicionais foram administradas, quando se observou atividade elétrica do coração, ou após 35 minutos de parada anóxica os sinais de uma cardioplegia efetiva são: aspecto "lavado" do sangue, que retorna pelo seio coronário e parada quase instantânea da atividade elétrica ou mecânica do coração. As cavidades esquerdas são drenadas pela ponta do ventrículo esquerdo ou aorta.

Antes do término do tempo intracardíaco, iniciou-se o aquecimento gradual do paciente. Terminado o fechamento da aorta, átrio esquerdo ou ventrículo direito, a aorta foi despinçada, restabelecendo a circulação coronária.

**Solução cardioplégica** - A solução cardioplégica utilizada contém 20 mEq/l de potássio, 12,5 de glicose, 16g de manitol e 500 mg de hidrocortisona, bicarbonato de sódio a 10% - 3,6 mEq/l. O pH da solução é de 7,66, osmolaridade de 380 mOsm e temperatura de 4°C (quadro I).

A solução cardioplégica é preparada no momento da abertura do tórax e o frasco é colocado em gelo, com água fria, em caixas térmicas, até ser utilizada.

**Quadro I - Solução cardioplégica (composição)**

Sol. ringer-lactato	500 ml.
Sol. cloreto de potássio a 19,1%	8 ml.
Sol. de glicose a 50%	25 ml.
Sol. de manitol a 20%	80 ml.
Sol. de bicarbonato de sódio a 10%	3 ml.
Hidrocortisona	500 mg.

pH = 7,66; osmolaridade = 380 mOsm; temperatura a 4°C. Sol. = solução.

**Preparo do material para a microscopia eletrônica de transmissão** - O fragmento do miocárdio foi colhido da região anterior do ventrículo esquerdo antes e após 60 min da circulação extracorpórea. Fixado com glutaraldeído e o cacodilato a um pH de 7,2. A seguir, foi utilizado o ácido ósmico a 1% para complemento da fixação. Para desidratação do material foi empregada solução de concentração crescente de álcool e acetona. A inclusão da amostra foi feita com resina Polylyte T208 a 80%. Após ser cortado

com ultramicrotomo foi corado com a solução de Reynolds<sup>52</sup>.

A seguir, o material foi analisado ao microscópio eletrônico marca Philips tipo EM 300 onde foram observados os mitocôndrios e suas cristas, miofibrilas e núcleo com sua cromatina. De cada material foram tirados três microfotografias com aumento final de 16.250 vezes.

A avaliação ultramicroscópica dos mitocôndrios foi feita com base no critério descrito por Fleming e col.<sup>19</sup>: trata-se de um método semiquantitativo de avaliação dos mitocôndrios, por serem essas organelas as primeiras a se alterarem com a anóxia<sup>1,5,6,9</sup>.

## RESULTADOS

### Ultramicroscopia

Os aspectos ultramicroscópicos do miocárdio de pacientes submetidos à circulação extracorpórea, com parada cardíaca anóxica hipotérmica - 3°C, eram os seguintes, no grupo A:

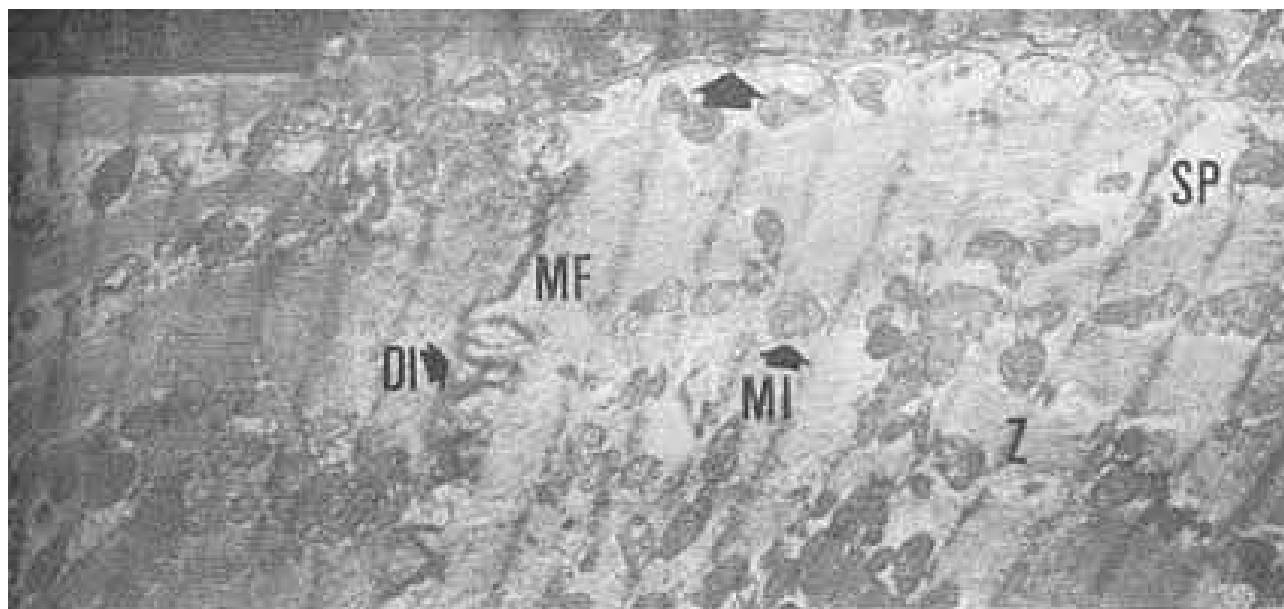


Fig. 1 - Grupo A (caso 3). Fotomicrografia pré-circulação extracorpórea, mostrando a integridade do disco intercalado (DI) e miofibrila (MF); matriz dos mitocôndrios (MI) densa e cristas preservadas. Ultra-estrutura normal. Z = banda; SP = sarcoplasma; flecha indica o sarcolema (aumento de 15.630x).

Caso 4 - O núcleo tinha aspecto lobulado, havia clareamento da matriz mitocondrial com cristas mais rarefeitas. Os mitocôndrios se encontravam edemaciados. As miofibrilas apresentavam hipercontração das bandas Z. Esses bordos eram irregulares. O núcleo estava aumentado de tamanho, com distribuição irregular de sua cromatina (agrupada e marginada). Havia também edema intracelular e aumento do diâmetro dos sarcotúbulos.

No grupo B, os aspectos ultramicroscópicos do miocárdio dos pacientes submetidos à circulação extracorpórea, com cardioplegia - 30°C, eram os seguintes:

Caso 1 - A figura 3 mostra material antes da circulação extracorpórea. Após a circulação extracorpórea havia edema de mitocôndrios e

Caso 1 - Na maioria dos mitocôndrios houve perda dos grânulos da matriz: clareamento da mesma e rotura das cristas. Havia edema dessa organela. Os grânulos de glicogênio estavam ausentes no sarcoplasma. As fibrilas estavam intactas.

Caso 2 - Alguns mitocôndrios tinham rotura de membrana externa. Havia edema intracelular por clareamento do sarcoplasma. Miofibrilas apresentavam seus miofilamentos desordenados e o núcleo com cromatina marginada. O disco intercalado estava roto.

Caso 3 - O material colhido antes da circulação extracorpórea foi considerado normal (fig. 1). Após a circulação extracorpórea, os mitocôndrios estavam edemaciados com matriz bem menos densa e havia rotura de cristas mitocondriais. Nas miofibrilas, a banda Z se encontrava mais espessa e irregular. Havia um sarcômero com destruição de suas miofibrilas. Os grânulos do glicogênio estavam ausentes. A cromatina nuclear estava marginada e havia presença de agrupamento de cromatina dentro do núcleo (fig. 2).

alguns com rotura das cristas. Os grânulos de glicogênio eram mais numerosos que o material colhido antes da circulação extracorpórea. As miofibrilas e o núcleo eram normais (fig. 4).

Caso 2 - Não havia alterações mitocondriais. Havia discreto edema intracelular e capilar, por aumento do espaço entre a membrana externa e a interna do endotélio. As miofibrilas, núcleo e sua cromatina, disco intercalado e sarcotúbulos eram normais.

Caso 3 - As cristas mitocondriais estavam integras, mas com discreto edema dos mitocôndrios. Os grânulos de glicogênio estavam presentes em maior número que o material colhido antes da circulação extracorpórea. As miofibrilas estavam preservadas, assim como o disco intercalado. O núcleo apresentava cromatina

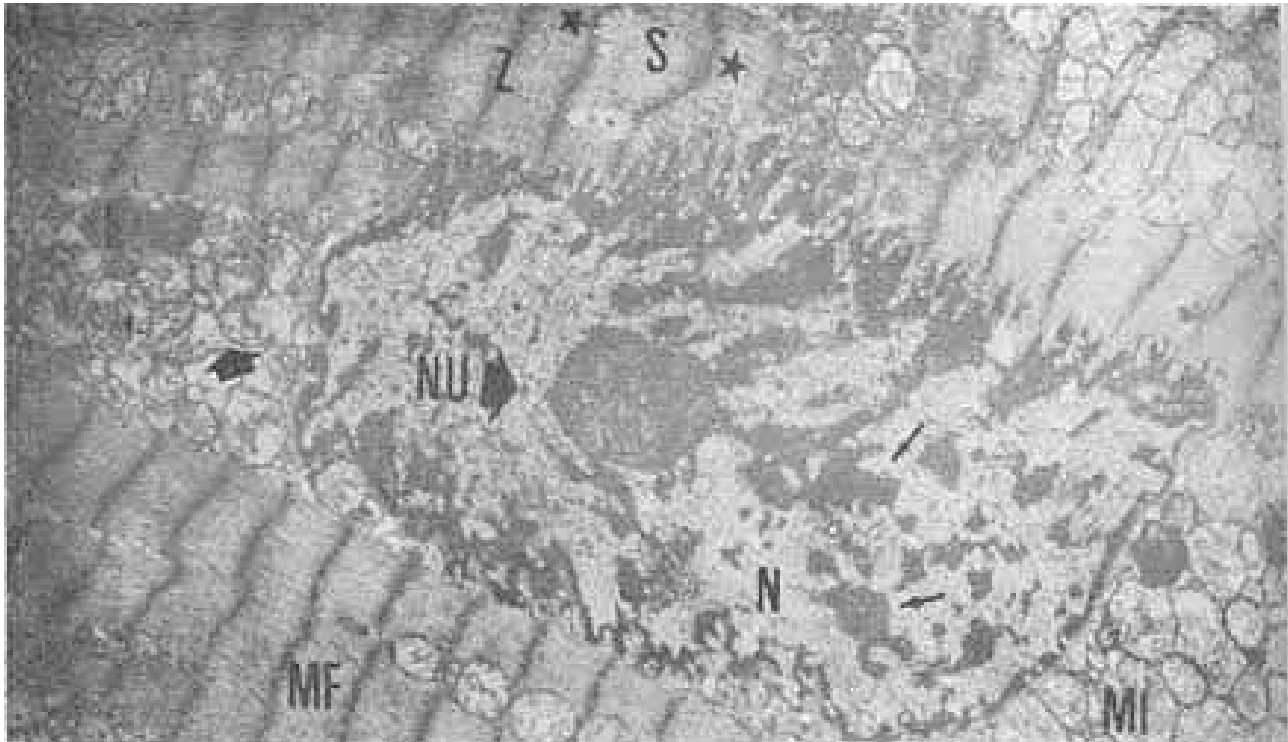


Fig. 2 - Grupo A (caso 3) - Fotomicrografia pós-circulação extracorpórea, revelando alterações em mitocôndrios (MI) com clareamento da matriz, rotura das cristas, rotura da membrana externa (flecha maior). As miofibrilas (MF) estão em desalinhamento com as bandas Z. Entre os dois asteriscos, presença de sarcômero (S) alterado. Núcleo (N) com marginação da cromatina assim como agrupamentos da mesma (flechas menores). Ultra-estrutura alterada. NU = nucléolo. (Aumento = 15.620x).

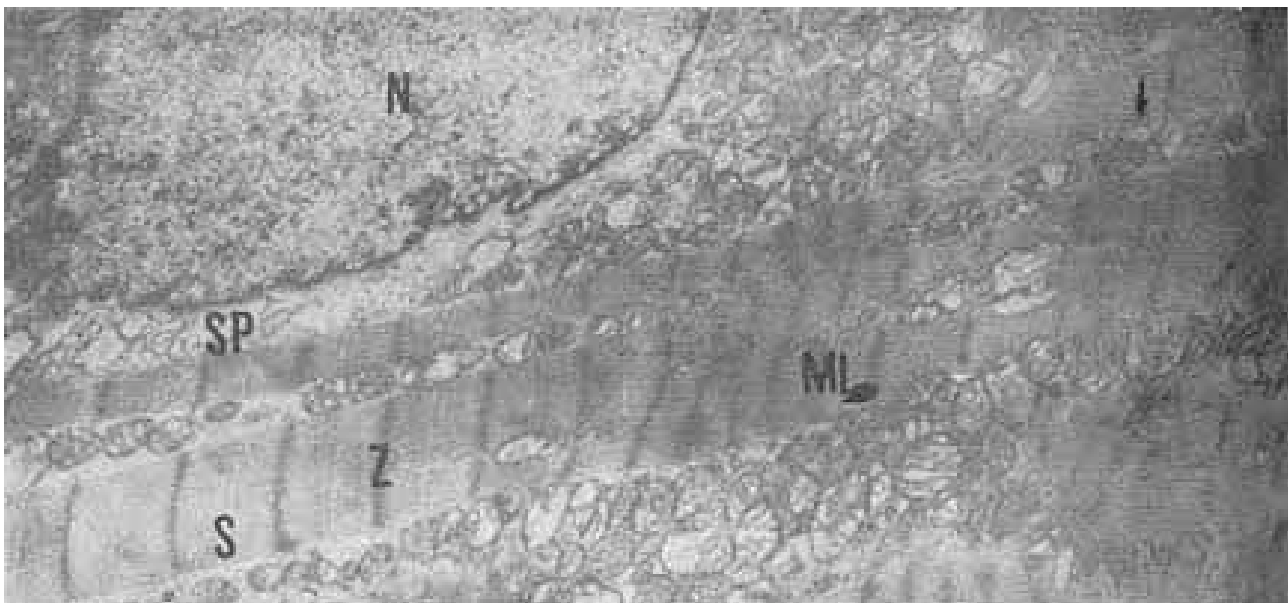


Fig. 3 - Grupo B (caso 1) - Fotomicrografia pré-circulação extracorpórea evidenciando mitocôndrios (MI), sendo que alguns estão alterados; banda Z (Z), sarcômero e sarcoplasma (SP) íntegros. Núcleo (N) com distribuição regular de sua cromatina. Sarcotúbulo de diâmetro conservado (flecha). Ultra-estrutura considerada preservada. (Aumento = 14.700x).

bem distribuída e o sarcoplasma estava menos denso.

Caso 4 - Mitocôndrios, miofibrilas, disco intercalado e núcleo tinham aspecto normal. Somente o sarcoplasma pouco menos denso perto do núcleo. Discreto edema intracelular. Houve aparecimento de grânulos de glicogênio. Neste caso o material colhido antes da circulação

extracorpórea apresentava-se pouco alterado, custas dos mitocôndrios (perda de densidade de matriz e rotura das cristas) e ausência dos grânulos e glicogênio.

Caso 5 - Alguns mitocôndrios tinham rotura das cristas e clareamento da matriz. Os grânulos de glicogênio eram quase ausentes. Os disco intercalado e núcleo eram normais.

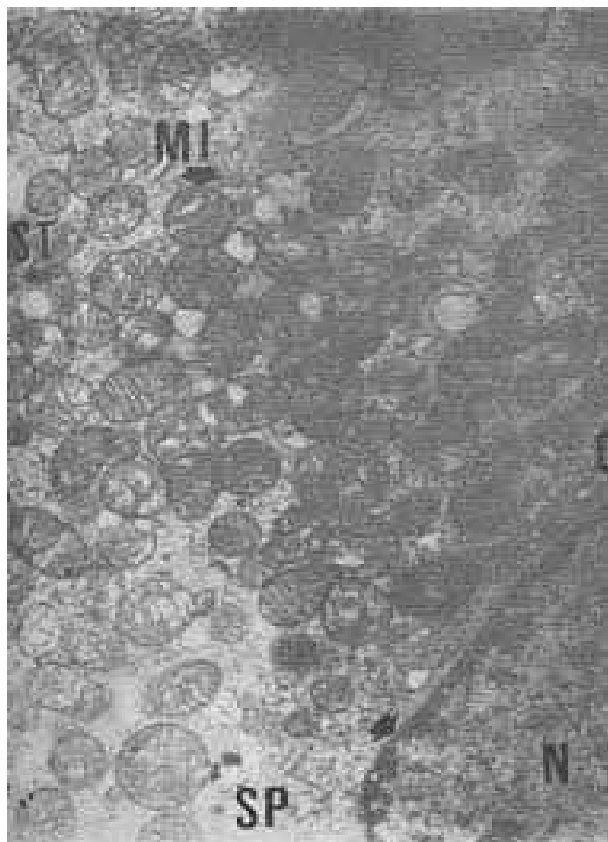


Fig. 4 - Grupo B (caso 1) - Fotomicrografia pré-circulação extracorpórea, revelando aumento do sarcoplasma (SP), discreto aumento do diâmetro do sarcotúbulo (ST). Os mitocôndrios (MI) estão preservados, mas pouco edemaciados. Núcleo (N) com distribuição regular de sua cromatina. Membrana nuclear dupla (flecha curta); nucléolo (flecha longa); G = aparelho de Golgi. Ultra-estrutura preservada em relação a figura 4. (Aumento = 14.700x).

A avaliação ultramicroscópica dos mitocôndrios está reunida no quadro II

### Evolução pós-operatória

A tabela III revela o tempo médio de circulação extracorpórea. Nos pacientes do grupo A, foi de 67 min e o de parada anóxica de 38,8 min. Nesse grupo, 3 doentes necessitaram de suporte inotrópico. No grupo B, o tempo de circulação extracorpórea e o de parada anóxica, foi de 77,8 e 45, 2 min, respectivamente. Neste grupo, somente o caso 5 necessitou de suporte inotrópico.

Nos pacientes do grupo A (parada cardíaca hipotérmica a 30°C), boa evolução tardia e imediata estiveram presentes em apenas 2 doentes (casos 1 e 3). Dois pacientes (50%) faleceram. No caso 2 o óbito ocorreu na 10.<sup>a</sup> hora de pós operatório por severo quadro de insuficiência ventricular esquerda. Em outro caso (4), o paciente faleceu após 6 dias do ato operatório (tab. IV).

Nos pacientes do grupo B (parada cardíaca cardioplégica), boa evolução imediata e tardia ocorreram em 4 pacientes (casos 1, 2, 3 e 4). No caso 5, houve quadro de síndrome de baixo débito cardíaco em vários períodos de fibrilação ventricular, nas primeiras horas de pós-operatório. Ainda nesse caso, houve deiscência total da ferida operatória, sendo necessária toracoplastia. Após esse ato cirúrgico, cursou com mediastinite. A evolução pós-operatória tardia foi boa (tab. IV).

Segundo Maloney e col. 53, o dano sofrido pelo miocárdio em consequência à anóxia durante a circulação extracorpórea é classificado em três estágios: nenhum ou leve, moderado e grave (quadro III).

Nos pacientes do grupo A, o suporte inotrópico foi necessário em 75% (3 casos) e a mortalidade foi de 50% (2 casos) No grupo B, em 20% (1 paciente), foi necessário suporte adre-

**Quadro II - Alterações miocárdicas, mitocondriais, produzidas pela parada cardíaca anóxica hipotérmica (grupo A) e cardioplégica (grupo B) Flameng, W. e col. 19.**

Grupo	N.º	Normal	Ausência de grânulos de depósito	Clareamento da matriz - cristas conservadas	Rotura das cristas	Perda da integridade
A	1					+
	2					+
	3				+	
	4			+		
B	1			+		
	2		+	+		
	3		+			
	4		+			
	5				+	

nérgico e neste grupo não houve mortalidade (quadro IV).

### DISCUSSÃO

Sabe-se que a falência miocárdica é responsável pela maior parte dos maus resultados de-

correntes da circulação cardíaca. E em alguns casos, a insuficiência ventricular esquerda é tão grave que os pacientes dificilmente são retirados da circulação extracorpórea. Tais eventos foram confirmados experimentalmente por Miller e col. 54, Stemmer e col. 8,9 em cães submetidos a longos períodos de parada anóxica, os

**Tabela - III - Dados intra-operatórios.**

Grupo	N.º	Tempo de circulação extracorpórea (min)	Tempo de parada anóxica (min)	Suporte inotrópico
A	1	55	31	+
	2	88	48	+
	3	58	30	-
	4	67	45	+
	m	67	38,8	
B	1	118	55	-
	2	63	36	-
	3	72	45	-
	4	73	51	-
	5	63	39	+
	m	77,8	45,2	

min = minuto; m = média; A = grupo A (parada cardíaca hipotérmica - 30°C); B = grupo B (parada cardíaca cardioplégica).

**Tabela IV - Evolução pós-operatória.**

Grupo	N.º	Evolução
A	1	Boa evolução imediata e tardia
	2	Síndrome de baixo débito grave - óbito após 10 horas de pós-operatório
	3	Boa evolução imediata e tardia
	4	Sangramento; síndrome de baixo débito; insuficiência renal e insuficiência respiratória; óbito no 6.º dia de pós-operatório
B	1	Boa evolução imediata e tardia
	2	Boa evolução imediata e tardia
	3	Boa evolução imediata e tardia
	4	Boa evolução imediata e tardia
	5	Fibrilação ventricular nas primeiras horas de pós-operatório; síndrome de baixo débito; deiscência de ferida operatória; mediastinite. Boa evolução tardia

A = parada cardíaca hipotérmica (30°C); B = parada cardíaca cardioplégica

**Quadro III - Dano miocárdico (Maloney Jr., J. V.; Nelson R. L. 53)**

Suporte Inotrópico %	Mortalidade operatória %	Dano miocárdico
0	10	Leve ou ausente
155-50	10	Moderado
50	10	Grave

**Quadro IV - Resultados.**

Grupo	Suporte inotrópico		Mortalidade	
	N.º	%	N.º	%
A	3	75	2	50
B	1	20	-	-

Dano miocárdico - Grupo A = dano miocárdico grave; Grupo B = dano miocárdico nenhum a leve.

quais não suportaram as agressões sobre o miocárdio.

No presente estudo, dois pacientes faleceram (casos 2 e 4, grupo A). O 1.º paciente pertencia à faixa etária de 73 anos e era portador de severa cardiopatia isquêmica. Foi submetido à revascularização do miocárdio, através de ponte de safena autóloga para as artérias descendentes anterior e direita. O tempo de circulação extracorpórea foi de 88 min e o de parada anóxica de 48 min. Evoluiu com severo quadro de síndrome de baixo débito cardíaco. O 2.º paciente, com 39 anos de idade, foi submetido à substituição valvar aórtica, por prótese artificial, em que o tempo de circulação extracorpórea e parada anóxica foram de 67 e 45 min, respectivamente. Nesse caso houve várias complicações pós-operatórias, inclusive baixo débito cardíaco. Em ambos os pacientes, principalmente no caso 2, havia alterações ultra-estruturais (pós-circulação extracorpórea), como rotura de cristas mitocondriais, clareamento total da matriz, rotura da parede externa do mitocôndrio alterações nucleares com cromatina marginada e ainda rotura do disco intercalado. Segundo Jennings e Ganore<sup>7</sup> e Balibrea e col.<sup>1</sup>, em estudos realizados em cães após 45 a 60 min de isquemia, a injúria é irreversível. Ressaltaram também a rotura do disco intercalado como sinal de irreversibilidade.

Normalmente a maioria dos estudos é realizada em animais de laboratório. Shaper e col.<sup>55</sup>, analisando material humano e experimental, observaram que as alterações enzimáticas ocorridas no cão têm relação com a sua ultra-estrutura. Mas essas alterações não podem ser correlacionadas com a ultra-estrutura do miocárdio humano, que já apresenta certo grau de agressão pela cardiopatia congênita ou adquirida.

Jones e col.<sup>56</sup> só mostraram que pacientes portadores de cardiopatia congênita, com obstrução de via de saída de ventrículo direito e aumento da pressão diastólica final (mais que 6 mm Hg), saturação de oxigênio menor que 90%, gradiente entre pressão sistólica de ventrículo direito e pressão sistólica de artéria pulmonar entre 51 e 99 mm Hg e idade superior a 14 anos, apresentaram alterações hipertróficas e de generativas. No caso 4, grupo A, a paciente tinha todas essas características, exceto a idade. Após 30 min de parada anóxica, já apresentou alterações ultra-estruturais, principalmente a nível de mitocôndrios com edema dos mesmos, clareamento da matriz e rotura das cristas mitocondriais. As bandas Z estavam mais espessas e irregulares. Os autores ressaltaram que nestes casos o núcleo é lobulado. Tal fato se repercutiu no caso estudado e a cromatina nuclear estava marginada e agrupada.

Nos pacientes portadores de valvopatia aórtica (casos 1 e 4, grupo A), as alterações pós-isquêmicas foram bem evidentes, apesar do tempo de anóxia não ser prolongado (31 e 45 min, respectivamente). Maron e col.<sup>57</sup> citam modificações ultra-estruturais em pacientes com doença valvar aórtica como: proliferação do sarcoplasma, diminuição de número de miofibrilas e sistema T, espessamento da membrana basal e o tecido fibroso circundando as células hipertróficas. Nessa situação a zona subendocárdica sofrerá rapidamente conseqüências da isquemia.



Madrazzo e col.<sup>51</sup> analisaram 15 pacientes, nos quais 6 eram portadores de valvopatia mitral. Citaram que a organização interna das células estava quebrada, com áreas de contração e supercontração das bandas. Os sarcômeros se encontravam descontínuos, com miofilamentos finos (actina) alterados. Havia também edema e perda das cristas mitocondriais em vários graus. Tal fato foi observado no caso 1, grupo B, onde havia clareamento da matriz e uma área de hipercontração das bandas. Essas alterações estavam presentes no material estudado antes da circulação extracorpórea.

Pacientes com cardiopatia isquêmica são mais sensíveis à anóxia miocárdica, dependendo do grau de obstrução das artérias coronárias. Schwarz e col.<sup>21</sup> observaram doentes com lesões de 50% até 100%. Descreveram alterações de contratilidade ventricular esquerda e da ultra-estrutura nos doentes com lesões acima de 90% de obstrução. Havia desorganização e perda de material contrátil, anormalidade da banda Z, alterações dos mitocôndrios, sarcoplasma, lisossomos e ribossomos. Os miofilamentos grossos se alteraram mais que os finos. Em oclusões totais (100%), havia atrofia celular. Essas alterações levaram à hipocinesia de ventrículo esquerdo, que, após reperfusão, volta ao normal. Esse fato é uma das indicações da revascularização do miocárdio. De La Inglesia e Lom<sup>58</sup> afirmaram que existem alterações da ultra-estrutura do miocárdio, sem oclusão total da artéria coronária. Tendo em vista estas duas alterações, indica-se cirurgia de revascularização, em pacientes com severa hipocontratilidade ventricular esquerda<sup>59</sup>, ou mesmo na fase aguda do infarto do miocárdio<sup>60</sup>.

Baseados na classificação de Flameng e col.<sup>19</sup> sobre alterações mitocondriais, observamos que no grupo B (parada cardíaca cardioplégica) houve melhor preservação dos mitocôndrios (quadro II). Um dos casos mais graves, o de n.º 3, apresentava oclusão total das artérias coronárias direita e circunflexa e lesão suboclusiva, do tronco da artéria coronária esquerda (TCE) e lesões suboclusivas das artérias descendente anterior e 1.º ramo diagonal. Nesse paciente houve preservação da estrutura dos mitocôndrios e sob aspectos clínico apresentou boa evolução pós operatória imediata e tardia.

A introdução da hipotermia em cirurgia cardíaca tem a finalidade de proteger ou lesar menos o miocárdio. Sunamori e col.<sup>3</sup> observaram que as paradas anóxicas de 45 min lesam menos o miocárdio a 28° e 30°C. Segundo os autores, a temperatura ideal seria entre 22 e 25°C. Relataram ainda que em normotermia o subendocárdio sofre alterações apesar de maior quantidade de grânulos de glicogênio nesta região Stemmer e col.<sup>8</sup> narraram alterações progressivas em corações de cães submetidos à parada cardíaca anóxica normotérmica de 30, 60 e 120 min. Depois de 120 min com hipotermia tóxica, não houve lesões severas do miocárdio e a sobrevida nesse grupo foi de 80%. McCallister e col.<sup>12</sup> demonstraram atividade lisossômica e fosfatase ácida em cães onde produziram três tipos de regressão ao miocárdio: circulação extracorpórea em normotermia, parada cardíaca anóxica normotérmica e hipotérmica. Dos três grupos, o que mais sofreu altera-

ções foi o de parada anóxica normotérmica Stemmer e col.<sup>9</sup> mostraram várias formas de preservação do miocárdio como: circulação extracorpórea normotérmica a 15°C e hipotermia tóxica; circulação extracorpórea normotérmica e parada anóxica normotérmica. Dos resultados obtidos, o grupo que mais sofreu alterações foi o de parada cardíaca anóxica normotérmica, sendo que nesse grupo a mortalidade foi de 100%. Os autores recomendam que pacientes com frações de ejeção baixa, insuficiência cardíaca franca ou descompensada, infarto do miocárdio ou condições que necessitem vários procedimentos cirúrgicos, devem ser candidatos ao emprego da hipotermia.

No presente trabalho, os pacientes submetidos ao uso da solução cardioplégica (grupo B), obtiveram melhores resultados clínicos. Não houve mortalidade e o suporte inotrópico foi necessário em apenas um paciente. Ao contrário do grupo A (hipotermia a 30°C), em que 50% dos pacientes faleceram e 3 necessitaram de drogas vasopressoras. Segundo conceito de Maloney e Nelson<sup>53</sup>, o dano miocárdico do grupo A foi considerado grave e do grupo B, de nenhum a leve.

A mortalidade tem sido menor em pacientes nos quais é utilizada a solução cardioplégica. Fortuna e col.<sup>32</sup> relataram mortalidade de 3% contra 13% nos pacientes submetidos à hipotermia, Düring e col.<sup>50</sup> também apresentaram baixa mortalidade (2,2%) com uso de cardioplegia.

Na presente investigação, a solução cardioplégica era hiperpotássica (20 mEq/l de potássio), hiperosmolar (380 mOsm) e hipotérmica (4°C). Além disso, continha glicose, hidrocortisona e bicarbonato de cálcio. Cada constituinte tem suas finalidades. O potássio leva à despolarização rápida da membrana celular, com parada instantânea do coração em diástole<sup>7,30,34,45</sup>. O manitol impede a entrada de sódio na célula, prevenindo edema intracelular<sup>49</sup>. A hidrocortisona estabiliza a membrana celular, impedindo entrada maior de cálcio na célula, evitando assim a contração do complexo actina miosina<sup>4-5</sup>. A glicose é o substrato para o fornecimento de energia<sup>55</sup>. O bicarbonato de sódio mantém o pH em níveis fisiológicos. A solução 4°C injetada na raiz da aorta sob pressão de 150 mm Hg diminui a temperatura do miocárdio para 13.º - 15°C<sup>16,33</sup>.

Na presente análise, procurou-se administrar dose única da solução. Em um caso (caso 1, grupo B), foi necessário adicionar mais solução, pois o tempo de parada anóxica foi prolongado. Alguns autores<sup>35,40</sup> têm relatado que a infusão contínua é melhor do que a intermitente. Mas Lucas e col.<sup>46</sup> observaram que doses múltiplas da solução evitariam o aumento da pressão de gás carbônico do miocárdio (PmCO<sub>2</sub>) e forneceriam mais substrato (glicose) ao miocárdio anóxico. Em contrapartida, afirmam que a temperatura deve ser baixa, para levá-la até 15.º em média.

Quanto à quantidade de potássio, Tucker e col.<sup>16</sup> não observaram diferenças entre doses hiperpotássicas; (20 mEq/l) e normopotássicas (mEq/l), a não ser o tempo em que o coração levou para parar (45 e 113, respectivamente).

te). Ellis e col.<sup>33</sup> também não relataram diferença entre as duas quantidades. Ambos os autores comentam que a temperatura da solução deve apresentar índices baixos.

Em relação à ultra-estrutura e os métodos de proteção do miocárdio utilizados no presente trabalho, observou-se que, nos pacientes do grupo B, houve maior integridade celular, principalmente a nível de mitocôndrios. Esse é um detalhe importante, pois os mesmos são os primeiros a sofrer alterações após a anóxia miocárdica.

A análise dos resultados possibilitou as seguintes conclusões: 1) os mitocôndrios se alteraram mais nos pacientes do grupo A. Clareamento da matriz, rotura das cristas e perda da integridade dos mitocôndrios foram as alterações observadas. O clareamento da matriz foi observado em 2 pacientes do grupo B; 2) alterações nucleares só foram observadas nos pacientes do grupo A; 3) suporte inotrópico foi necessário em 75% dos pacientes do grupo A e em 20% dos pacientes do grupo B; 4) dano miocárdico foi considerado grave nos pacientes do grupo A e leve nos pacientes do grupo B; 5) a microscopia eletrônica foi útil na avaliação das alterações ultra-estruturais; 6) a solução hiperpotássica, hiperosmolar e hipotérmica preservou o miocárdio humano sob aspecto morfológico e clínico.

#### SUMMARY

Cardiac anoxia alters the cellular structure mainly the mitochondria. To avoid this, it is necessary to protect the myocardium from anoxic. Several methods have been described and the two most applied clinically are: anoxic hypothermia and chemical cardiac arrest (cardioplegic).

The authors studied two groups of patients. Group A consisted of four patients in whom anoxic cardiac hypothermic arrest was employed. Group B consisted of five patients in whom chemical arrest or cardioplegic arrest was used.

Biopsies of the cardiac muscle (anterior area of the left ventricle) were taken before and 60 minutes after cardiopulmonary bypass and studied by electron microscopy.

The authors studied two groups of patients, mitochondria were disrupted and was more evident in group A; 2) nuclear alterations were more evident in group A; 3) myocardial damage was severe in group A and mild in group B; 4) electron microscopy was useful to evaluate the ultrastructure; 5) cardioplegia preserved the human myocardium better in both the morphologic and clinical aspects.

#### Agradecimentos

Ao Prof. Orlando Teodorico de Freitas, Diretor do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, permitindo o uso do laboratório e do microscópio eletrônico, ao Prot. Gastão Pereira da Cunha, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Cardiologia da Universidade Federal do Paraná e à Sra. Ieda Maria Alves Pereira pelo serviço e datilografia.

#### REFERÊNCIAS

1. Balibrea, J. L.; Bullon, A.; De La Fuente, A.; Alarcon A.; Farinas, J.; Collantea, P.; Gil, M.; Gombau, M.; Morales, R.; Sanchez, F. - Myocardial ultrastructural changes during extracorporeal circulation with anoxic cardiac arrest and its prevention by coronary perfusion. *Experimental study. Thorax*, 30: 371, 1976.
2. Stolte, N.; Hacker, R. W.; Faust - Brather, R.; Leisse, B.; Hinter Holzinger, R.; Prestele, H. - Functional and ultrastructural investigations of myocardium in various cardiac arrest procedures. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 19: 193, 1978.
3. Sunamori, M.; Trout, R. G.; Kaye, M. P.; Harrison C. E. - Quantitative evaluation of myocardial ultrastructure following hypothermic anoxic arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 76: 518, 1978.
4. Sharma, G. P.; Varley, K. G.; Barwinsky, J.; Klim, S. W.; Cohen, M. Dhalla, N. S. - Alterations in energy metabolism and ultrastructure upon reperfusion of the ischemic myocardium after coronary occlusion. *Am. J. Cardiol.* 36: 234, 1975.
5. Burdette, W. J.; Ashford, T. P. - Structural changes in the human myocardium following hypoxia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 50: 210, 1965.
6. Lichtig, C.; Brooks, H. - Myocardial ultrastructure and function during progressive early ischemia in the intact heart. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 70: 309, 1975.
7. Jennings, R. B.; Ganote, C. E. - Mitochondrial structure and functional in acute myocardial ischemic injury. *Circ. Res.* 38 (suppl. 1): I - 80, 1976.
8. Stemmer, E. A.; Joy, I.; Aronow, W. L.; Thibault, W.; McCart, P.; Connolly, J. - Preservation of myocardial ultrastructural investigations of myocardium in various cardiac arrest procedures. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*, 19: 193, 1978.
9. Stemmer, E. A.; McCart, P.; Stanton, Jr. W. W.; Thibault, W.; Dearden, L. S.; Connolly, J. E. - Functional and structural alterations in the myocardium during aortic cross-clamping. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 66: 754, 1973.
10. Engedal, H.; Skagseth, E.; Saetersdal, S.; Myklebust, R. - Cardiac hypothermia evaluated by ultrastructural studies in man. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 75: 548, 1975.
11. Kottmeier, C. A.; Weath, M. W. - Ultrastructure evaluation of myocardial preservation during cardiopulmonary bypass: The mitochondrion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 52: 786, 1966.
12. McCallister, L. P.; Munger, B. L.; Tyers, G. F. O.; Hughes, H. C. - The effect of different methods of protecting the myocardium on lysosomal activation and acid phosphatase activity in the dog heart after one hour of cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 69: 644, 1975.
13. Gomes, O. M. - Análise comparativa das alterações ultra-estruturais e bioquímicas determinadas no miocárdio, pelas paradas cardíacas anóxicas normotérmica e hipotérmica (3°C). Estudo experimental. Tese de Livre Docência. Faculdade de Medicina da USP- São Paulo, 1975.
14. Gomes, O. M.; Calonge, H. C. F.; Zerbini, E. J. - Cardioplegia: Bases ultra-estruturais, bioquímicas e farmacodinâmicas. *Arq. Bras. Cardiol.* 34: 143, 1980.
15. Mulch, J.; Schaper, J.; Scheld, H. H.; Herlein, F. W. - Recovery of the after normothermic ischemia. Part I: ultrastructural findings during post ischemic reperfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 27: 12, 1979.
16. Tucker, W. Y.; Ellis, R. J.; Mangano, D. T.; Ryan, C. J. M.; Ebert, P. A. - Questionable importance of high potassium concentrations in cardioplegic solutions. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 77: 183, 1979.
17. Berkloff, A.; Bourguet, J.; Favard, P.; Guinnebault, M. - *Biologia e Fisiologia Celular*. Edgard Blücher, Editora da USP, São Paulo, 1972.
18. Mazza, V. L.; Anversa, P.; Morgotti, L.; Toso, A. - Changes of the myocardial ultrastructure during open heart surgery with extracorporeal circulation. *J. Cardiovasc. Surg. Torino*, 17: 212, 1969.
19. Flameng, W.; Broges, M.; Daenen, W.; Stalpaert, O. - Ultrastructural and cytochemical correlates of myocardial protection by cardiac hypothermia in man. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 79: 413, 1980.
20. Olmesdahl, P. J.; Gregory, M. A.; Cameron, E. W. J. - Ultrastructural artifacts in biopsied normal myocardium and their relevance to myocardial biopsy in man. *Thorax*, 34: 82, 1979.
21. Schwars, P.; Flameng, W.; Thiedemann, K. U.; Schaper, W.; Schelepper, M. - Effect of coronary stenosis on myocardial function ultrastructure and aortocoronary by pass graft hemodynamics. *Am. J. Cardiol.* 42: 193, 1978.

22. Melrose, D. G.; Dreyer, B.; Dental, H. H.; Baker, J. B. E. - Elective cardiac arrest. *Lancet*, 2: 21, 1955.
23. Ferrans, V. F. - Morphological methods for evaluation of myocardial protection. *Ann. Thorac. Surg.* 20: 11, 1975.
24. Gomes, O. M.; Pedroso, F. I.; Pereira, S. N.; Ayoub, A. H.; Wwang, W. J.; Weigl, D. R.; Zerbini, E. J. - Alterações ultramicroscópicas e enzimáticas mitocondriais, produzidas no miocárdio pela parada cardíaca anóxica. *Arq. Bras. Cardiol.* 26: 383, 1973.
25. Lambert, J. J.; Silver, H.; Howell, J.; Kampman, K.; Glacov, S. - Transmural gradients of experimental myocardial ischemia: limited correlation of ultrastructure with epicardial S - T segment elevation. *Am. Heart J.* 96: 496, 1978.
26. Oliveira, S. A. - Contribuição para o estudo da revascularização do miocárdio. Tese Doutorado. Faculdade de Medicina USP. São Paulo, 1972.
27. Chawla, S. K.; Najafi, H.; Javid, H.; Serry, C. - Coronary obstruction secondary to direct cannulation. *Ann. Thorac. Surg.* 23: 135, 1977.
28. Buckberg, G. D.; Hottenrott, C. E. - Ventricular fibrillation. Its effect on myocardial flow distribution and performance. *Ann. Thorac. Surg.* 20: 76, 1975.
29. Gay, W. A.; Ebert, P. A. - Functional metabolic and Morphologic effects of potassium - induced cardioplegia. *Surgery*, 74: 284, 1973.
30. Cunningham, J. N.; Abbas, J. S.; Adam, P. X.; Nathan, I.; Klugman, I.; Spencer, F. C. - Constant pressure aortic root perfusion versus cardioplegia and hypothermia. Comparison of methods of myocardial protection. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 77: 496, 1979.
31. Gharagozloo, F.; Bulkey, B. H.; Hutchins, G. M.; Bixler, T. J.; Schaff, H. V.; Flaherty, J. T.; Gardner, T. J. - Potassium - induced cardioplegia, during normothermic cardiac arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 77: 602, 1979.
32. Fortuna, A. B. P.; Lima, E. E. O.; Terzi, R. - Baccarin, V.; Hatsumura, M.; Vieira, R. W. - Cardioplegia hiperpotássica, hiperosmótica e hipotérmica: Método de proteção miocárdica durante a parada anóxica para cirurgia valvar. *Arq. Bras. Cardiol.* 33: 91, 1979.
33. Ellis, R. J.; Mangano, D. T.; Van Dyke, D. C.; Ebert, P. A. - Protection of myocardial function not enhanced by high concentrations of potassium during cardioplegic arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 78: 698, 1979.
34. Ellis, R. J. - Pryor, W.; Ebert, P. A. - Advantages of potassium cardioplegia and perfusion hypothermia in left ventrículo hypertrophy. *Am. Thorac. Surg.* 24: 299, 1977.
35. Rosenfeldt, F. L.; Hearse, D. J.; Cankovic-Darracot, S.; Braimbridge, M. V. - The additive protective effects of hypothermia and chemical cardioplegia during ischemic cardiac arrest in the dog. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 79: 29, 1980.
36. Hearse, D. J.; Stewart, D. A.; Braimbridge, M. V. - The additive protection effects of hypothermia and chemical cardioplegia, during ischemic cardiac arrest in the rat. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 70: 39, 1980.
37. Roberts, A. J.; Abel, R. M.; Alonso, D. R.; Subramanian, V. A.; Paul, J. S.; Gay, W. A. - Advantages of hypothermic potassium cardioplegia and superiority of continuous versus intermittent aortic cross-clamping. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 79: 44, 1980.
38. Salerno, T. A.; Wassan, S. M.; Charette, E. J. P. - Glucose substrate in myocardial protective. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 79: 59, 1980.
39. Engelman, R. M.; Baumann, G.; Boyd, A. D.; Kaplan, F. - Myocardial injury associated with potassium arrest. *Ann. Thorac. Surg.* 22: 557, 1976.
40. Engelman, R. N.; Rocisou, J. H.; O'Donoghue, M. J., Longo, F.; Dobbs, W. A. - A comparison of intermittent and continuous arrest for prolonged hypothermic cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.* 29: 217, 1980.
41. Barner, H. B.; Kaiser, G. C.; Codd, J. E.; Tyras, D. H.; Larks, H.; Pennington, D. G.; Willman, V. L. - Clinical experience with cold blood as the vehicle for hypothermic potassium cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.* 29: 224, 1980.
42. Barner, H. B.; Larks, H.; Codd, J. E.; Standeven, J. W.; Jellinger, M.; Kaiser, G. C.; Menz, L. J.; Tyras, D. H.; Pennington, D. G.; Hahn, J. W.; Willman, V. L. - Cold blood as the vehicle for potassium cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.* 28: 509, 1979.
43. Heydorn, W. H.; Moores, W. Y.; Mack, J.; Dembitsky, W. - The importance of hyperkalemia in a cold perfusion solution: a correlative study examining myocardial function, metabolism, tissue gases, and substrates. *Ann. Thorac. Surg.* 28: 281, 1979.
44. Behrendt, D. M.; Kirsh, M. M.; Jochim, K. E.; Sloan, H. - Effects of cardioplegia solution on human contractile element velocity. *Ann. Thorac. Surg.* 26: 499, 1978.
45. Buckberg, G. D. - A proposed "solution" to the cardioplegic controversy. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 77: 803, 1979.
46. Lucas, S. K.; Elmer, E. B.; Flaherty, J. T.; Prodromos, C. K.; Bulkley, B. H.; Gott, V. L.; Gardner, T. J. - Effect of multiple - dose potassium cardioplegia on myocardial ischemia, return of ventricular function, and ultrastructural preservation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 80: 102, 1980.
47. Fischer, V. M.; Barner, H. - Ultrastructural integrity of human ventricular myocardium following cardioplegic arrest. *Ann. Thorac. Surg.* 27: 49, 1979.
48. Braile, D. M.; Bilaqui, A.; Anacleto, J. C.; Araújo, J. D.; Moreira, L.; Ribeiro, R. A.; Bellini, A. J.; Garzon, S. A. C.; Ardito, R. V.; Nicolau, J. C.; Jacob, J. L. B.; Greco, O. T.; Lorga, A. M. - Proteção miocárdica por cardioplegia. *Arq. Bras. Cardiol.* 33 (supl. 1): 19, 1979.
49. Foglia, R. P.; Steed, D. L.; Follete, D. M.; De Land, E.; Buckberg, G. D. - Iatrogenic myocardial edema with potassium cardioplegia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 78: 217, 1979.
50. Döring, V.; Bleese, N.; Lierse, W.; Pokar, H. - Biochemie und morphologische untersuchungen am menschlichen herzen in kardioplegie und tiefer myokard-hypotemia. *Thorax. chirurg.* 26: 449, 1978.
51. Madrazzo, A.; Polnitsky, C. A.; Gianelli, V. - Human left ventricular ultrastructure in valvular disease: clinical and laboratory catheterization correlation. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 100: 576, 1976.
52. Reynolds, E. S. - The use of lead citrate at high pH as an electron - opaque stain for electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208, 1963.
53. Maloney, Fr., J. V.; Nelson, R. L. - Myocardial preservation during cardiopulmonary bypass - An overview. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 70: 1040, 1975.
54. Miller, D. R.; Rasmussen, P.; Kliensky, B.; Cossman, F. P.; Allbritte Jr., F. P. - Elective cardiac arrest its effect on myocardial structure and function. *Ann. Surg.* 154: 751, 1968.
55. Schaper, W.; Schper, J. - Palmowski, J.; Thiedemann, K. U.; Herlein, F. - Ischemia - tolerance following cardioplegic arrest in human patients and in experimental animal. *J. Cardiovasc. Surg. Torino*, 16: 268, 1975.
56. Jones, M.; Ferrans, V. F.; Morrow, A. G.; Roberts W. C. - Ultrastructural of crista supraventricularis muscle in patients with congenital heart diseases associated with right ventricular out flow tract obstruction. *Circulation*, 51: 39, 1975.
57. Maron, B.; Ferrans, V. F.; Roberts, W. C. - Myocardial ultrastructure in patients with chronic aortic valve disease. *Am. J. Cardiol.* 35: 725, 1976.
58. De La Iglesia, F. A.; Lumb, G. - Ultrastructural and circulatory alterations of the myocardium in experimental coronary artery narrowing. *Lab. Invest.* 27: 17, 1972.
59. Carvalho, R. G.; Hilú Jr., M.; Takeshita, N.; Oliveira, P. F.; Carvalho, N. T. G.; Macedo, J. F.; Brofman, P. R.; Loures, D. R. R. - Revascularização coronária em pacientes com severa hipopontratilidade ventricular esquerda. *Arq. Bras. Cardiol.* 35: 299, 1980.
60. Carvalho, R. G.; Oliveira, P. P.; Araújo, F. A. M.; Elhosni Jr., R. A.; Ruedger, R. R.; Carvalho, N. T. C.; Macedo, J. F.; Brofman, P. R.; Loures, D. R. R. - Tratamento cirúrgico da angina pós-infarto do miocárdio. *Arq. Bras. Cardiol.* 33 (supl. 1): 267, 1979.