

Henrique Murad
Allan Douglas Ribeiro de Queiroz
Solange Chalfun de Mattos
Marcos Macedo Piedade
Paulo Cesar Costa de Albuquerque
Luíza Helena Francescutti Murad
Gerson Cotta Pereira
Eduardo Sergio Bastos
Antônio de Pádua Jazbik

PROTEÇÃO MIOCÁRDICA POR CARDIOPLEGIA
SANGÜÍNEA DURANTE CIRCULAÇÃO
EXTRACORPÓREA. AVALIAÇÃO
ULTRA-ESTRUTURAL MIOCÁRDICA NO CÃO.

Os autores desenvolveram método simplificado para infusão de cardioplegia sangüínea durante circulação extracorpórea. Fizeram estudo experimental em cães, para averiguar a eficiência do método.

Dois grupos de 5 cães foram submetidos a 60 min de isquemia cardíaca, seguidos de 60 min de reperfusão coronária. A proteção miocárdica, durante isquemia cardíaca, foi obtida com o método de cardioplegia sangüínea no grupo I e com cardioplegia acelular gelada no grupo II.

Para comparar os dois métodos empregados, foram feitas quatro biopsias de ventrículo esquerdo, para estudo ultra-estrutural: antes da isquemia cardíaca; ao fim de 60 min de isquemia cardíaca; com 30 min de reperfusão coronária e com 60 min de reperfusão coronária. Nas três primeiras biopsias houve apenas alterações ultra-estruturais miocárdicas discretas, sem diferenças entre os dois grupos. Nas últimas, as alterações ultra-estruturais foram mais severas no grupo II do que no grupo I.

Conclui-se que o método de proteção miocárdica com cardioplegia sangüínea é eficaz para 60 min de isquemia cardíaca, sendo inclusive superior à cardioplegia acelular gelada.

A proteção do miocárdio tem trazido benefícios imediatos e tardios aos doentes submetidos à cirurgia cardíaca¹. A cardioplegia, introduzida por Melrose e col.², em 1955, abandonada e reintroduzida por Gay e Ebert³, em 1973, passou a ser, em todo o mundo, o método mais aceito de proteção miocárdica durante a cirurgia cardíaca. Kirklin e col.⁴ separam os métodos de proteção miocárdica em tradicionais, de um lado, e cardioplegia gelada, de outro, e consideram a cardioplegia gelada um grande avanço. Muitas perguntas ainda têm que ser respondidas, no uso de soluções cardioplégicas para proteção miocárdica: composição, concentração de ingredientes, veículo a ser usado, temperatura, pressão de infusão, frequência de reinfusão, etc. McGoon⁵ admite que seriam necessários aproximadamente 10.000 artigos referentes a experiências cuidadosamente realizadas sobre cardioplegia, para uma definição absoluta da proteção miocárdica em cirurgia cardíaca.

A solução cardioplégica pode ser infundida com veículo sangüíneo ou acelular. A vantagem em usar o sangue como veículo da cardioplegia é proporcionar um meio oxigenado à célula miocárdica, durante a isquemia cardíaca⁶.

Grande quantidade de reservas de ATP pode ser gasta no breve período de atividade eletromecânica antes da parada cardíaca farmacológica⁷. Ocorre metabolismo aeróbico, com conseqüente aumento de produção de energia, quando a célula miocárdica, submetida à parada isquêmica, recebe oxigênio. Assim, com a reinfusão de cardioplegia sangüínea, os níveis de energia celular podem ser refeitos, graças ao metabolismo aeróbico. Parece, pois, importante manter um meio rico em oxigênio durante a parada cardíaca, já que, mesmo parado a 15°C, o coração necessita, para suas demandas de energia, 0,27 ml de O₂ por 100 g/min⁸.

²Um dos óbices da cardioplegia sangüínea é a complexidade dos métodos usados para adicionar solução cardioplégica ao sangue da bomba de circulação extracorpórea⁹. Procuramos, no presente trabalho, testar uma técnica simplificada para infusão de solução cardioplégica sangüínea gelada, fazendo estudo comparativo com infusão de solução cardioplégica acelular gelada. Fizemos pesquisa experimental em cães, avaliando a proteção miocárdica usada através de estudo ultra-estrutural seriado de biópsias da parede livre do ventrículo esquerdo. A análise da ultra-estrutura do miocárdio

permite uma avaliação digna de confiança do grau de lesão sofrida pelo coração durante circulação extracorpórea e isquemia cardíaca¹⁰⁻¹³.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram operados 10 cães mestiços, de ambos os sexos, com peso variando entre 11 e 20 kg, divididos em dois grupos de 5 cães, conforme o tipo de solução cardioplégica usado: cardioplegia sangüínea no grupo I e cardioplegia acelular no grupo II. Os cães foram submetidos à anestesia geral, induzida com tionembutal, na dose de 10 mg/kg, e mantidos em plano anestésico com doses fracionadas de Inoval (fentanil e droperidol). Foi feita intubação traqueal e os cães foram mantidos em ventilação assistida com ar ambiente, por meio de respirador tipo Harvard. Foram dissecadas a veia cefálica direita, para infusão venosa e a artéria femoral esquerda, para medida de pressão arterial. Eletrocardiograma foi monitorizado em todos os cães.

Todos os cães foram submetidos à esternotomia mediana, sendo o pericárdio aberto longitudinalmente. Dois cateteres foram colocados na aorta ascendente, através de suturas em bolsa, um para infusão de solução cardioplégica e outro para monitorização da pressão de infusão da solução cardioplégica durante o pinçamento aórtico. Um cateter foi colocado no átrio esquerdo, através de sutura em bolsa, para medida de pressão. Foi instituída circulação extracorpórea, com drenagem venosa através de cânulas introduzidas pelo átrio direito, na veia cava superior e na veia cava inferior e retorno arterial através de cânula introduzida na artéria femoral direita. O ventrículo esquerdo foi drenado pela ponta, para se evitar distensão do mesmo. Usamos bomba de circulação extracorpórea modelo IC-3, do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, com oxigenador permanente infantil siliconizado, acoplado a "canister" descartável infantil, modelo I. C. da Macchi. Os tubos usados para o circuito de circulação extracorpórea foram os de 1/4 de polegada. Os circuitos e o oxigenador foram cheios com 600 ml de solução de Ringer lactato e 600 ml de sangue total compatível. O fluxo sangüíneo, usado durante a circulação extracorpórea, foi de 2,4 l/m²/min.

Dosagens seriadas de gases arteriais e hematócrito foram feitas, para manter valores próximos dos normais (pH = 7,40; BE = zero; pCO = 35 mmHg; hematócrito = 30 %). A pressão arterial média foi mantida em torno de 60 mmHg durante todo o tempo de isquemia e recuperação. Evitou-se o uso de drogas inotrópicas, para não interferir nos resultados das biopsias miocárdicas, combatendo a hipotensão com reposição de volume e, ocasionalmente, com drogas vasoativas, tipo araminol.

Todos os cães foram submetidos a 60 min de isquemia cardíaca por pinçamento da aorta ascendente, seguidos por 60 min de reperfusão coronária por retirada da pinça aórtica. Durante o período de isquemia cardíaca, o coração foi protegido por infusão de solução cardioplégica gelada na raiz da aorta e por hipotermia tópica, por meio de soro gelado moído no saco pericárdico. Durante o período de isquemia cardíaca, a temperatura corporal foi mantida

em torno de 20°C. Durante a reperfusão coronária, os cães tiveram sua temperatura corporal elevada para 36°C. A temperatura miocárdica, durante a isquemia, foi mantida entre 10 e 20°C, elevando-se para normotermia no final do experimento. O coração foi desfibrilado, sempre que necessário (3 cães do grupo I e 3 cães do grupo II). Nos dois primeiros min de reperfusão, a pressão arterial média foi mantida em 50 mmHg. Durante os 30 min iniciais da reperfusão, o coração foi mantido batendo vazio, através da drenagem de ventrículo esquerdo. Nos 30 min subseqüentes, permitimos maior trabalho ao ventrículo esquerdo: a cânula de drenagem do ventrículo esquerdo foi retirada, os pulmões ventilados e o fluxo sangüíneo da bomba de circulação extracorpórea diminuído de modo a que a pressão do átrio esquerdo fosse mantida em 6 cm de água.

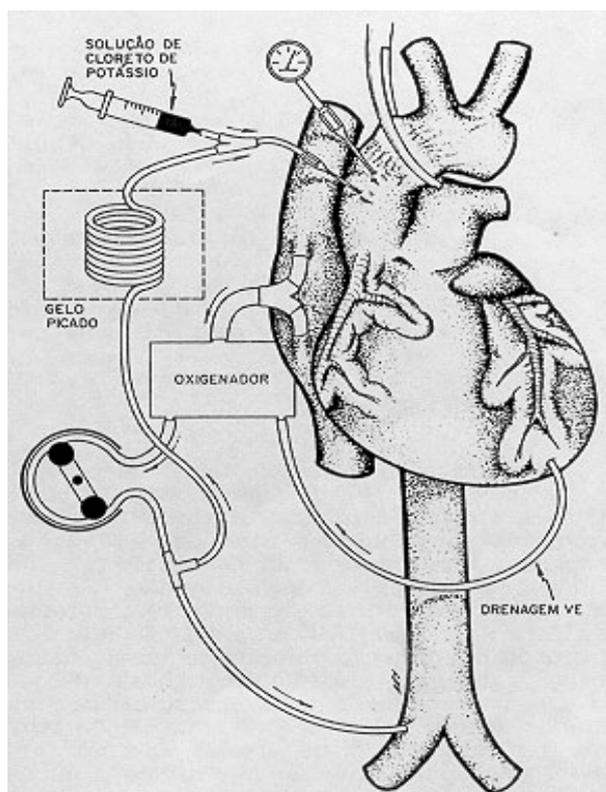


Fig. 1 - Esquema do método empregado para infusão de cardioplegia sangüínea (grupo I).

A cardioplegia sangüínea foi conseguida por modificação do método de infusão de cardioplegia gelada proposto por Levinsky e col.¹⁴.

Através de um "Y" na linha arterial, um tubo adicional foi usado para a cardioplegia. Este tubo, no qual se interpunha outro tubo em espiral mergulhado em um recipiente contendo gelo picado, era ligado à cânula na raiz da aorta. Este tubo, que permitia a entrada de sangue gelado na raiz da aorta, era mantido pinçado, sendo aberto somente quando se desejava a infusão do cardioplégico. A temperatura do sangue a ser infundido na aorta variou entre 13 e 16°C. Uma seringa contendo solução de cloreto de potássio era acoplada a esse tubo para cardioplegia sangüínea, no campo operatório

(fig. 1). Logo que a aorta era pinçada, o tubo para cardioplegia era aberto e a rotação do rolete arterial da bomba de circulação extracorpórea diminuída, de tal modo que a pressão arterial na raiz da aorta ascendente não ultrapassasse 50 mmHg nem fosse inferior a 30 mmHg. Simultaneamente, fazia-se injeção manual, por seringa, na raiz da aorta, de cloreto de potássio a 10%, de maneira a injetar uma relação de sangue-potássio de 24 a 28 mEq/l. A quantidade de potássio a ser injetada manualmente por min era proporcional ao fluxo da bomba de circulação extracorpórea necessário para manter a pressão arterial média, na raiz da aorta, em torno de 50 mmHg. Fluxos entre 100 e 200 ml/min e injeções de 2 a 4 ml da solução de cloreto de potássio foram usados (tab. 1).

Tabela I - Relação entre fluxo sangüíneo, injetado pela bomba na raiz da aorta e quantidade de potássio injetado manualmente.

Fluxo sangüíneo		ml solução
ml/min	mEqClK	10% (seringa)
1000	27,2	20
500	13,6	10
400	10,88	8
300	8,16	6
250	6,8	5
200	5,44	4
175	4,76	3,5
150	4,08	3
125	3,4	2,5
100	2,72	2
75	2,04	1,5
50	1,36	1
25	0,68	0,5

A primeira infusão de solução cardioplégica era feita na dose de 20 ml/kg de peso, em 3 min. Reinfusões de sangue gelado, em quantidade de 10 ml/kg, simultaneamente com colocação de mais soro gelado no saco pericárdico, eram feitas sempre que a temperatura miocárdica fosse superior a 20°C durante 1 a 2 min. Cloreto de potássio era injetado com o sangue gelado, sempre que houvesse sinais de atividade elétrica no coração.

A infusão da solução cardioplégica cristalóide, acelular, não oxigenada (tab. II) foi feita na quantidade inicial de 20 ml/kg, em 3 min, com pressões de infusão tais que a pressão arterial média na raiz da aorta não fosse superior a 50 mmHg. Reinfusões, na dose de 10 ml/g, por 1 a 2 min, eram feitas simultaneamente com renovação da hipotermia tópica, sempre que houvesse sinais de atividades elétrica cardíaca e/ou temperatura miocárdica superior a 20°C.

Tabela II - Composição da solução cardioplégica utilizada (27,2 mEq/l de ClK).

Soro fisiológico 0,9%	480 ml
Glicose hipertônica 25%	4 ml
Bicarbonato de sódio 8,4%	6 ml
Cloreto de potássio 10%	10 ml

A fim de comparar os dois métodos, foi feito estudo morfológico da camada subendocárdica do ventrículo esquerdo, ao microscópio óptico e eletrônico. As amostras, com 1,5mm de diâmetro foram colhidas por biópsias de toda a espessura do ventrículo esquerdo, na parede ântero-lateral, por meio de cilindro-agulha

de Keyes, para biopsia de pele. O terço interno do segmento (camadas subendocárdica) foi separado, para estudo morfológico.

Quatro amostras de cada cão foram colhidas: durante a circulação extracorpórea, antes da isquemia cardíaca; ao fim de 60 min de isquemia cardíaca, antes de retirar a pinça da aorta; com 30 min de reperfusão coronária e com 60 min de reperfusão coronária.

As amostras foram fixadas em solução contendo glutaraldeído a 3%, em tampão Millonig 0,1 M (pH = 7,3), durante 2 h. Após lavagem em solução tampão, os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1%, em tampão Millonig 0,1 M (pH = 7,3), durante 1 h. Após essa etapa, o material foi lavado em tampão e desidratado em soluções de concentrações crescentes de etanol. A seguir, os fragmentos foram incluídos em "epon". Cortes semifinos e ultrafinos foram executados em ultramicrotomo Porter-Blum MT2B. Os cortes semifinos foram corados pelo azul de toluidina e examinados com microscópio óptico. Os cortes ultrafinos foram recolhidos com uma grelha de 400 quadrículas coberta com uma membrana de "formvar" e foram corados por acetato de uranila e citrato de chumbo, sendo examinados em microscópio Zeiss EM9 B a 80 KV.

Foram feitas quatro micrografias eletrônicas de cada biopsia, para análise da ultra-estrutura miocárdica.

Resultados

Todos os cães apresentaram, no fim do experimento, situação hemodinâmica razoavelmente estável.

Não foram encontradas alterações significativas no exame histológico feito com microscópio óptico, nas 40 biópsias obtidas. No exame com microscópio eletrônico, alterações significativas foram observadas em mitocôndrias, retículo sarcoplasmático, miofibrilas, glicogênio e matriz intracelular. Não foram encontradas as alterações ultra-estruturais relacionadas a seguir, as quais são citadas em outros trabalhos^{12,13,15,16}: edema intersticial, vacuolização citoplasmática, separação dos discos intercalares, marginação da cromatina nuclear, ruptura da membrana celular, edema e ruptura endoteliais e formação de bolhas no endotélio.

Foi feita uma análise qualitativa e semiquantitativa das alterações ultra-estruturais encontradas. Foram admitidos 5 graus para cada uma das alterações ultra-estruturais encontradas (zero a quatro cruzeiros), conforme a intensidade da lesão (considerou-se zero a ausência de lesão e quatro cruzeiros a lesão máxima). Quanto às mitocôndrias e miofibrilas, avaliada não só a intensidade da lesão como a porcentagem de mitocôndrias ou miofibrilas lesadas. Nas tabelas III e IV, são apresentadas as diversas alterações ultra-estruturais encontradas em cada biópsia.

As alterações ultra-estruturais, em conjunto com ênfase nas das mitocôndrias, por serem estas organelas mais sensíveis à isquemia, foram graduadas em ausentes, leves, moderadas, severas e muito severas (tab. V). A biopsia anterior à isquemia cardíaca não apresentou alte-

Tabela III – Alterações ultra-estruturais nas biópsias obtidas no grupo I (cardioplegia sanguínea).

Biópsias	Cão	Alterações ultra-estruturais				Edema
		Mitocôndrias	Sarcoplasmático	Miofibrilas	Glicogênio	
A	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0
B	1	+	+	+	+	0
	2	+	+	0	+	0
	3	0	+	+	+	0
	4	0	0	+	+	+
	5	0	+	+	0	+
C	1	0	+	0	+	0
	2	+	+	0	0	0
	3	+	0	+	++	+
	4	0	0	0	0	0
	5	+	+	0	0	0
D	1	0	+	0	+	0
	2	+	+	+	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	5	++	+	++	0	0

Biópsias: A – antes de isquemia cardíaca; B – ao fim da isquemia cardíaca; C – 30 min de reperfusão coronária; D – 60 min de reperfusão coronária.

rações significativas, tanto no grupo I como no grupo II. Essa biópsia serviu para demonstrar que a anestesia, a toracotomia e a circulação extracorpórea não trouxeram dano à ultra-estrutura miocárdica. A biópsia obtida ao fim de 60 min de isquemia cardíaca mostrou alterações ultra-estruturais leves em ambos os grupos. A biópsia obtida com 30 min de reperfusão coronária também não apresentou diferenças sensíveis entre os grupos. Com a biópsia obtida após 60 min de reperfusão coronária, notou-se nítida superioridade do grupo I sobre o grupo II; enquanto que no grupo I as lesões encontradas foram leves em 2 cães, ausentes em 2 e moderadas em 1, no grupo II, as lesões variaram de moderadas a muito severas.

Alguns aspectos de nossos achados ultra-estruturais são demonstrados nas figuras 2 e 3.

Discussão

O estudo da ultra-estrutura miocárdica permite avaliar a intensidade do dano sofrido pelo miocárdio durante a isquemia e, conseqüentemente, comparar diversos métodos de proteção miocárdica^{12,27,18}.

Os estudos da ultra-estrutura miocárdica após isquemia foram feitos por oclusão temporária de artérias coronárias^{19,02}. Jennings e col.²¹ estudaram, no músculo papilar posterior de cães, as conseqüências morfológicas da oclu-

são temporária da artéria circunflexa. Consideraram como alterações reversíveis: edema discreto das mitocôndrias, dilatação do retículo sarcoplasmático, marginação moderada da cromatina nuclear e edema das miofibrilas. Essas alterações foram encontradas até 18 min de isquemia. As lesões irreversíveis encontradas após 60 min de isquemia caracterizaram-se por ausência de glicogênio, marginação da cromatina nuclear, grande edema das mitocôndrias com ruptura e fragmentação das cristas, diminuição na densidade da matriz e aparecimento de densidades amorfas no interior das mitocôndrias.

A maioria dos estudos mostrou recuperação da função cardíaca no cão após 30 min de isquemia normotérmica e grande depressão miocárdica após 45 min^{22,23}. O estado de lesão irreversível é atingido mais precocemente pelas células subendocárdicas do que pelas células subepicárdicas¹⁹ e mais pelas células de corações hipertrofiados do que pelas células de corações normais²⁴.

Com a cirurgia cardíaca, houve grande interesse em estudar as alterações ultra-estruturais apresentadas durante a circulação extracorpórea. Admitimos que as lesões encontradas durante circulação extracorpórea, salvo algum edema celular e das mitocôndrias, sejam conseqüência de isquemia miocárdica²⁵. Assim, podemos avaliar os métodos de proteção miocárdica durante a isquemia cardíaca conhecendo as possíveis alterações ultra-estruturais presentes nos variáveis graus de isquemia. Essas alterações podem ser discretas, moderadas ou severas. Ao serem examinadas as micrografias eletrônicas, os dados que devem ser procurados são: grau de separação e desorganização das miofibrilas, marginação da cromatina nuclear, edema das mitocôndrias, ruptura mitocondrial e desorganização das cristas, presença de grânulos densos intramitocondriais, formação de faixas de contração, desaparecimento dos grânulos de glicogênio e edema endotelial, com formação de bolhas^{26,27}.

As lesões mitocondriais mais comuns são a perda da densidade da matriz e a fragmentação das cristas. Essas lesões têm sido encontradas também em células miocárdicas de cães submetidos a estado de choque. Após reperfusão, aparecem corpos granulares densos no interior das mitocôndrias, provavelmente contendo cálcio²⁷. Esses habitualmente coexistem com as faixas de contração e representam uma lesão isquêmica severa.

Kottmeier e Wheat¹⁶, estudaram as alterações mitocondriais, em circulação extracorpórea. Os seguintes tipos de degeneração foram encontrados: perda de densidade da matriz, com fragmentação das cristas; perda dos grânulos densos; degeneração lamelar; degeneração granular; formação de condriosferas. Não consideraram o edema mitocondrial como uma forma de degeneração. Cães submetidos à anestesia, toracotomia e canulação apresentaram degeneração mínima das mitocôndrias. Alterações irreversíveis em grande número de mitocôndrias foram encontradas após parada cardíaca anóxica. Apenas 10% das mitocôndrias estavam alteradas com circulação extracorpórea normotérmica.

Tabela IV – Alterações ultra-estruturais nas biópsias obtidas no grupo II (cardioplegia acelular).

Biópsias	Cão	Alterações ultra-estruturais				
		Mitocôndrias	Retículo sarcoplasmático	Miofibrilas	Glicogênio	Edema Intracelular
A	6	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0
B	6	+	+	+	0	+
	7	0	+	0	+	0
	8	0	+	0	0	+
	9	+	++	+	0	0
	10	+	0	0	0	+
C	6	+	+	0	0	0
	7	+	++	0	++	0
	8	+	+++	+	+++	+
	9	0	++	0	+++	0
	10	+	++	0	0	0
D	6	++	+	+	+	+
	7	++	+	+++	+++	+
	8	++++	+++	+++	+++	++++
	9	++	++	+	++	0
	10	++	++	0	0	0

Biópsias: A – antes de isquemia cardíaca; B – ao fim da isquemia cardíaca; C – 30 min de reperfusão coronária; D – 60 min de reperfusão coronária.

Tabela V - Grau de lesão ultra-estrutural nas biópsias dos grupos I (cardioplegia sangüínea) e II (cardioplegia acelular).

Grupo	Cão	Biópsias			
		A (pré-isquemia)	B (Ao fim da Isquemia)	C (30 min de reperfusão)	D (60 min de reperfusão)
I	1	Ausente	Leve	Leve	Leve
	2	Ausente	Leve	Leve	Leve
	3	Ausente	Leve	Leve	Ausente
	4	Ausente	Leve	Ausente	Ausente
	5	Ausente	Leve	Leve	Moderado
II	6	Ausente	Leve	Leve	Moderado
	7	Ausente	Leve	Leve	Moderado
	8	Ausente	Leve	Moderado	Muito severo
	9	Ausente	Leve	Leve	Moderado
	10	Ausente	Leve	Leve	Moderado

Uma correlação enzimática desses achados ultra-estruturais foi obtida por Gomes e col.²⁸, que encontraram grande redução na atividade da desidrogenase alfa-ceto-glutárica e da desidrogenase málica, após 60 min de parada cardíaca anóxica.

O glicogênio diminui, mas não desaparece nas lesões irreversíveis. No cão, há uma correlação entre o grau de isquemia miocárdica e a diminuição de glicogênio²⁹.

A parada cardíaca anóxica afeta principalmente a camada subendocárdica²⁴, sendo o músculo subendocárdico do ventrículo esquerdo o mais vulnerável à isquemia³⁰. Por

essa razão, preferimos, em nosso trabalho, estudar a camada subendocárdica do ventrículo esquerdo.

Para a comparação dos métodos, além de uma análise qualitativa é necessário que se compare quantitativamente o grau de lesão ultra-estrutural. Kottmeier e Wheat¹⁶ analisaram de modo quantitativo as lesões mitocondriais encontradas, calculando a porcentagem de formas degeneradas de mitocôndrias nas biópsias obtidas. Jennings e col.³¹ usaram método semelhante. Page e McCallister³² empregaram



Fig. 2-A

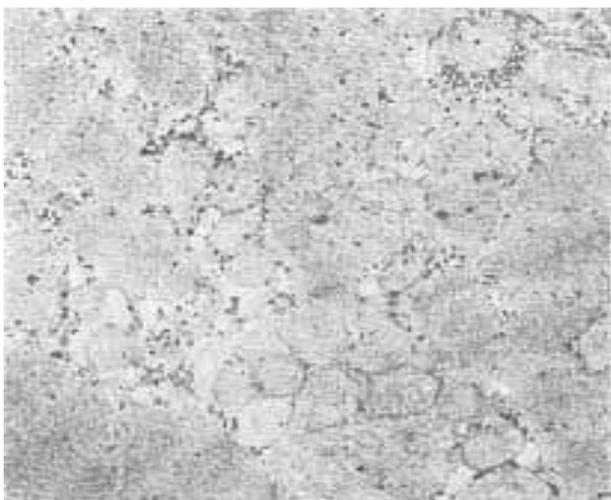


Fig. 2-B

Fig. 2 - Micrografias eletrônicas de miocárdio de cães submetidos à circulação extracorpórea com proteção miocárdica por cardioplegia sanguínea. Em A), biopsia obtida após 60 min de isquemia cardíaca. Grau de lesão ultra-estrutural leve. Corte longitudinal de célula muscular cardíaca, mostrando retículo sarcoplasmático dilatado em algumas áreas. Aumento: 13.650 X. Em B), biopsia obtida após 60 min de reperfusão coronária. Grau de lesão ultra-estrutural moderado. Corte transversal de célula muscular cardíaca, mostrando mitocôndrias com variado grau de alteração. Algumas apresentam morfologia normal, enquanto outras exibem elevado grau de distorção. O retículo sarcoplasmático mostra-se dilatado em várias áreas. Aumento: 13.200 X.

técnica estereológica para avaliar os volumes dos diversos componentes da célula miocárdica, obtendo diferenças significativas entre corações normais, hipertrofiados e estimulados por tiroxina. Sunamori e col.²⁵ graduaram de zero a dez as alterações de membranas e cristas mitocondriais e calcularam a proporção entre grânulos de glicogênio e mitocôndrias, para analisar semiquantitativamente

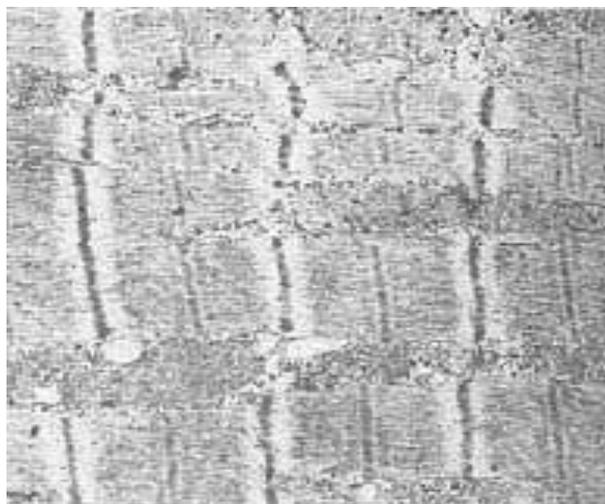


Fig. 3-A

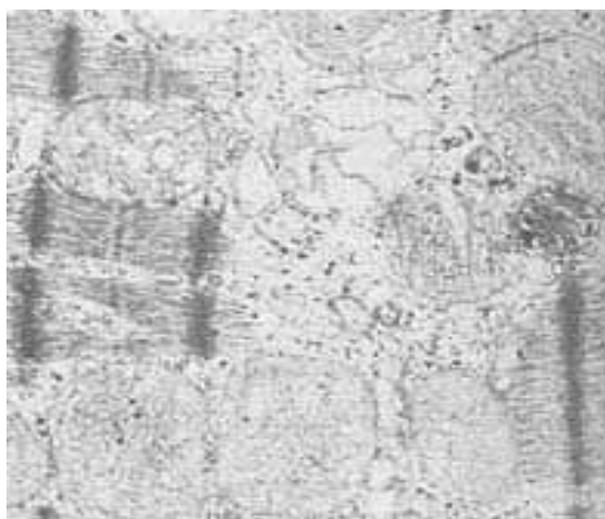


Fig. 3-B

Fig. 3 - Micrografias eletrônicas de miocárdio de cães submetidos à circulação extracorpórea com proteção miocárdica por cardioplegia acelular. Em A), biopsia obtida antes do período de isquemia cardíaca. Lesão ultra-estrutural ausente. Corte longitudinal de célula muscular cardíaca. Aumento: 13.650 X. Em B), biopsia obtida após 60 min de reperfusão coronária. Grau de lesão ultra-estrutural muito severo. Corte longitudinal de célula muscular cardíaca, mostrando desagregação e ruptura de miofibrilas. A matriz citoplasmática mostra-se profundamente alterada por edema, possuindo restos de membrana e algumas cisternas de retículo sarcoplasmático dilatadas. As mitocôndrias apresentam alterações grosseiras, que incluem grandes áreas de rarefação, aumento de volume e desagregação da estrutura. O glicogênio encontra-se diminuído. Aumento: 17.850 X.

biopsias miocárdicas. Lucas e col.¹¹ catalogaram os sinais de isquemia miocárdica (presença e severidade de edema mitocondrial, ruptura de mitocôndrias e de miofibrilas, depósitos de cálcio intramitocondriais, faixas de contração, marginação da cromatina nuclear) em discretos, moderados e severos. Pereira e col.¹² graduaram as lesões encontradas (edema mito-

condrial, edema extracelular, edema intracelular, ruptura de miofibrilas e depleção de glicogênio) em: muito leves, leves e intensas. Trump e col.³³ procuraram fazer uma análise muito precisa de micrografias eletrônicas, para classificar estágios de reação celular pós-isquemia. Magee e col.³⁴ dividiram as lesões ultra-estruturais em: leves (edema mitocondrial discreto e ruptura focal de sarcômeros), moderadas (edema mitocondrial moderado, degeneração de miofibrilas) e severas (edema mitocondrial acentuado, ruptura de mitocôndrias, faixas de contração, desorganização e separação de miofibrilas, marginação intensa da cromatina nuclear) e calcularam a porcentagem de lesões leves, moderadas e severas existentes em cada grupo em estudo. Kay e col.³⁵ fizeram análise ultra-estrutural semiquantitativa de biópsias do ventrículo esquerdo em cães, usando método que julgamos muito adequado: encontraram correlação entre os achados ultra-estruturais e a função ventricular após isquemia. Analisaram 4 micrografias eletrônicas selecionadas ao acaso para cada biópsia, atribuindo valor zero para o tecido normal e 10, para o tecido afetado ao máximo. Estudaram 10 índices de alterações ultra-estruturais de isquemia miocárdica, atribuindo-lhes peso igual: edema intracelular, degeneração de mitocôndrias, dilatação do retículo sarcoplasmático ou sistema T, vacuolização citoplasmática, ruptura ou degeneração de miofibrilas, ruptura ou separação dos discos intercalares, marginação severa da cromatina nuclear, ruptura de membrana celular miocárdica, edema intersticial e edema endotelial capilar com formação de bolhas.

Schapper e col.³⁶ usaram computador para calcular o volume de mitocôndrias, material contrátil e citoplasma em biópsias de ventrículo esquerdo obtidas de 31 pacientes submetidos à troca valvar aórtica. As biópsias foram obtidas antes da parada cardíaca, ao fim do período de isquemia e depois de 20 min de reperfusão coronária. Encontraram edema mitocondrial e celular apenas após a reperfusão coronária.

Em nosso material, achamos mais adequado atribuir cinco graus apenas (zero a quatro cruzes) às alterações ultra-estruturais das mitocôndrias, miofibrilas, glicogênio, retículo sarcoplasmático e matriz intracelular. Demos atenção maior às lesões mitocondriais, por terem um padrão evolutivo bem definido durante a isquemia^{16,21}. Não achamos as outras alterações ultra-estruturais descritas por Kay e col.³⁵, talvez porque não tivemos graus extremos de lesão miocárdica.

Uma lesão miocárdica isquêmica severa pode tornar-se ultra-estruturalmente evidente apenas após a reperfusão sangüínea³⁷. A entrada de água no interior da célula isquêmica e a execução de trabalho eletromecânico por uma célula sem reservas de energia podem justificar o aparecimento tardio de lesões ultra-estruturais após reperfusão⁶. É interessante notar que somente após 60 min as alterações se tornaram evidentes. Engelman e col.³⁸ estudaram as alterações de adenosina trifosfato (ATP) e fosfocreatina (CP) miocárdicas em porcos submetidos a 3h de isquemia cardíaca e 1 hora de reperfusão coronária. Os valores de ATP se mantiveram levemente acima do

normal durante o período de isquemia e depois caíram abaixo do controle, indicando grande consumo de energia durante a reperfusão. Os níveis de CP caíram durante a isquemia e subiram a níveis acima do controle com a reperfusão, indicando uma recuperação das fontes energéticas celulares. Neste estudo, a análise dos resultados mostrou superioridade da cardioplegia sangüínea sobre a cardioplegia acelular.

Os trabalhos que estudam métodos de proteção miocárdica devem, pois, incluir análise do comportamento do coração (morfologia, função, histoquímica) com pelo menos 1 hora de reperfusão. Talvez, no futuro, um melhor conhecimento das lesões de reperfusão permita conseguir um método ainda melhor de proteção miocárdica durante a cirurgia cardíaca⁸.

O método que usamos para infusão de cardioplegia sangüínea é fácil de reproduzir. Barner e col.³⁹ obtiveram excelentes resultados clínicos em coronariopatas com método parecido ao por nós empregado: perfundiam a aorta proximal à pinça aórtica com 300 a 400 ml de sangue a 10°C, ao qual adicionavam cloreto de potássio para uma concentração final de 30 mEq/l. A infusão do sangue e potássio era feita por injeções manuais sucessivas de 50 ml, por meio de seringa. Reinfusões eram feitas a cada 20 ou 30 min, com 200 a 300 ml de sangue na mesma temperatura e concentração de potássio. Achamos que nosso método é mais simples do que o usado por Barner e col. Atingimos temperaturas mais baixas (entre 13 a 16°C) no sangue infundido, do que aquelas (em torno de 22°C) sugeridas por Follette e col.⁴⁰, sem que houvesse alteração ultra-estrutural miocárdica importante. Acreditamos que, com a diluição usada no veículo sangüíneo da solução cardioplégica, é pouco provável que haja empilhamento de hemácias ou aumento da viscosidade sangüínea, apesar da hipotermia.

Já se demonstrou que a proteção miocárdica com cardioplegia sangüínea a 4°C é igual à oferecida por cardioplegia sangüínea a 16°C⁹. Com o uso de cardioplegia sangüínea e hipotermia tópica associada, a temperatura miocárdica foi mantida em torno de 15°C, sem muita dificuldade. Para produzirem assistolia, as doses de potássio foram semelhantes em ambos os grupos, ficando o coração sem atividade elétrica durante todo o tempo de isquemia cardíaca.

Nossos resultados demonstraram a superioridade da cardioplegia sangüínea sobre a cardioplegia acelular com o método por nós usado. Acreditamos que, se tivéssemos usado um tempo de isquemia mais prolongado (3-4 h), essas diferenças seriam ainda mais nítidas.

O coração consome oxigênio quando perfundido a 4°C. Uma vez que nessa temperatura as necessidades celulares são menores, todo o oxigênio é usado para renovar as reservas de energia.

Outra vantagem da cardioplegia com sangue é prover um meio com substrato suficiente e com pressão oncótica próxima da normal. Kanter e col.⁴¹ encontraram menor quantidade de água miocárdica nos coelhos tratados com cardioplegia sangüínea do que naqueles tratados com cardioplegia cristalóide. Esses resul-

tados são semelhantes aos obtidos por Lucas e col.⁴² usando manitol durante a reperfusão cardíaca. A diminuição no edema miocárdico pode ser relacionada com a melhor recuperação funcional pós-isquêmica. Há também menor risco de hemodiluição excessiva durante a cardioplegia com sangue.

Barner e col.⁴³, em cães, mostraram a superioridade da cardioplegia sangüínea sobre a cardioplegia acelular e a infusão de sangue gelado na raiz da aorta. Bomfim e col.⁴⁴ não encontraram diferenças entre cardioplegia sangüínea e cardioplegia cristalóide em paciente submetidos à troca valvar aórtica, com uma infusão única de solução cardioplégica e tempo de oclusão aórtica de 65 min. Talvez a cardioplegia sangüínea tivesse sido superior à cristalóide, se eles tivessem usado doses múltiplas. Takamoto e col.⁴⁵ fizeram estudo sobre métodos de proteção miocárdica em cães comparando cardioplegia sangüínea em dose única e em dose múltipla e cardioplegia cristalóide em dose única e em dose múltipla. Os melhores resultados foram obtidos com cardioplegia sangüínea em dose múltipla. Os resultados com cardioplegia cristalóide foram inferiores, mas ainda bons, sem haver diferença entre dose única e dose múltipla. A cardioplegia sangüínea em dose única foi a pior entre os métodos empregados. Em 57% dos cães, não houve parada cardíaca total durante os 120 min de duração da isquemia. Follette e col.⁶ demonstraram que o grau de proteção miocárdica em cães, com 2 h de pinçamento aórtico, é melhor com cardioplegia sangüínea do que com cardioplegia acelular (plasma), quando os mesmos aditivos são usados em ambas as soluções.

As desvantagens potenciais da cardioplegia sangüínea são as seguintes: 1 - mau controle na composição iônica; 2 - presença, na microcirculação coronária, de produtos indesejáveis da circulação extracorpórea, tais como as catecolaminas; 3 - maior consumo de energia durante isquemia, uma vez que a temperatura miocárdica com cardioplegia sangüínea não atinge níveis tão baixos como os atingidos com cardioplegia cristalóide. Follette e col.⁴⁰ sugerem que o limite mínimo de temperatura da cardioplegia sangüínea seja 22°C, para não alterar em demasia a reologia sangüínea. O uso de cardioplegia cristalóide a 4°C permite um resfriamento miocárdico mais profundo. A adição de hipotermia tópica à perfusão de solução cardioplégica faz cessar essa desvantagem potencial. Em nosso trabalho a temperatura miocárdica foi mantida uniformemente baixo de 20°C, sem dificuldades, em ambos os grupos do experimento; 4 - a quantidade de potássio que produz assistolia é provavelmente maior na cardioplegia sangüínea do que na cristalóide. Follette e col.⁶ acharam que doses de 28 a 30 mEq/l de potássio eram as ideais para produzir assistolia a 20°C com cardioplegia sangüínea, enquanto Hearse e col.⁴⁶, com cardioplegia cristalóide a 24°C, acharam ser ideal a dose de 13 mEq/l de potássio. Esses resultados talvez não expressem a realidade, uma vez que Follette e col. trabalharam com cão, simulando condições clínicas, e Hearse e col. trabalharam com coração isolado de rato. Essa maior quantidade de potássio necessária para produzir

assistolia pode ser decorrente do menor resfriamento miocárdico com a cardioplegia sangüínea. Não encontramos diferenças na quantidade de potássio necessária para produzir assistolia entre os dois grupos em estudo; 5 - alterações das características do sangue a baixas temperaturas, com aumento da viscosidade sangüínea e empilhamento de hemácias. O aumento na viscosidade sangüínea eleva a resistência vascular coronária, tornando a perfusão miocárdica mais difícil; 6 - necessidade de um sistema mais elaborado para a infusão de cardioplegia, o que procuramos evitar, com o método usado; 7 - maior risco de hipercalemia em crianças ou durante pinçamento aórtico prolongado com múltiplas reinfusões de solução cardioplégica, uma vez que a solução cardioplégica não pode ser aspirada para fora do campo operatório. Acreditamos que, com a técnica por nós empregada, possamos evitar esse inconveniente, já que só intermitentemente infundimos soluções de potássio e uma quantidade menor é, pois, injetada no miocárdio; 8 - aparecimento de crioglutininas abaixo de 22°C.

Cardioplegia sangüínea em múltiplas reinfusões, combinada com profunda hipotermia miocárdica, tem sido usada clinicamente com excelentes resultados⁴⁷. Cunningham e col.⁴⁸ mostraram a necessidade de uma técnica perfeita na infusão de soluções cardioplégicas para a obtenção de bons resultados, uniformemente.

Summary

The authors developed a simplified method for cardioplegia infusion during extracorporeal circulation. They have done an experimental study, in dogs, to evaluate their method.

The dogs were divided in two groups of five dogs each, and they were submitted to 60 minutes of cardiac ischemia followed by 60 minutes of coronary reperfusion. In dogs of group I myocardial protection during cardiac ischemia was achieved through chilled blood cardioplegia infusion, while in group II myocardial protection was obtained with acellular cold cardioplegia.

Four biopsies were taken from the free wall of the left ventricle, in each dog for ultrastructural analysis: A) before cardiac ischemia; B) at the end of 60 minutes of cardiac ischemia; C) after 30 minutes of coronary reperfusion; D) after 60 minutes of coronary reperfusion.

Myocardial ultrastructure was normal or only slightly abnormal in biopsies A, B and C, with no differences between groups I and II. Biopsies taken at 60 minutes of coronary reperfusion (D) showed striking ultrastructural differences between the two groups: the ultrastructural changes in group II were more severe than those in group I.

The authors conclude that their method of cold blood infusion for myocardial protection is adequate for a 60 minutes period of cardiac ischemia; and it is even superior to cold acellular cardioplegia, in that period of time.

Referências

- Harlan, B. J.; Starr, A.; Harwin, F. M. - Manual of Cardiac Surgery. Springer-Verlag, New York, 1980, Vol. 1. p. 42.
- Melrose, D. G.; Dryer, B.; Bental, H. H. - Elective cardiac arrest. *Lancet*, 2: 21, 1955.
- Gay, W. A. Jr.; Ebert, P. A. - Functional, metabolic and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery*, 74: 284, 1973.
- Kirklin, J. W.; Conti, V. R.; Blakstone, E. H. - Prevention of myocardial damage during cardiac operations. *N. Engl. J. Med.* 301: 135, 1979.
- McGoon, D. C. - The quest for ideal myocardial protection. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 79: 150, 1980 (editorial).
- Follette, D. M.; Mulder, D. G.; Maloney, J. V. et al. - Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion on intermittent ischemia; experimental and clinical study. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 76: 604, 1978.
- Hearse, D. J.; Stewart, D. A.; Braimbridge, M. V. et al. - Cellular protection during myocardial ischemia: the development and characterization of a procedure for induction of reversible ischemic arrest. *Circulation*, 53: 193, 1976.
- Buckberg, G. D. - A proposed solution to the cardioplegic controversy. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 77: 803, 1979.
- Stiles, Q. R.; Kirklin, J. W.; Balderman, S. C. et al. - Myocardial preservation symposium. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 82: 870, 1981.
- Jennings, R. B. - Myocardial ischemia-observations definitions and speculations. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1: 345, 1970 (editorial).
- Lucas, S. K.; Elmer, E. B.; Flaherty, J. T. et al. - Effect of multiple-dose potassium cardioplegia on myocardial ischemia, return of ventricular function and ultrastructural preservation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 80: 102, 1980.
- Pereira, S. N.; Ribeiro, C. T.; Tabone, E. J. et al. - Proteção do miocárdio em cirurgia cardíaca. Estudo experimental. *Arq. Bras. Cardiol.* 36: 391, 1981.
- Stemmer, E. A.; Joy, I.; Aronow, W. S. - Preservation of myocardial ultrastructure. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 70: 666, 1975.
- Levinsky, L.; Lee, A. B.; Lee, K. C. et al. - Cold blood potassium cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.* 30: 297, 1980.
- Jennings, R. B.; Hendson, P. B.; Sommers, R. M. - Structural and functional abnormalities in mitochondria isolated from ischemic dog myocardium. *Lab. Invest.* 20: 548, 1969.
- Kottmeier, C. A.; Wheat, M. W. - Ultrastructural evaluation of myocardial preservation during CPB: the mitochondrion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 52: 786, 1966.
- Cerra, F. B.; Lajos, T. Z.; Montes, M. et al. - Structural functional correlates of reversible myocardial anoxia. *J. Surg. Res.* 16: 140, 1974.
- Jynge, P.; Hearse, D. J.; de Letris, J. et al. - Protection of the ischemic myocardium. Ultrastructure enzymatic and functional assessment of the efficacy of various cardioplegic infusates. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 76: 2, 1978.
- Jennings, R. B.; Baum, J. H.; Herdson, P. B. - Fine structural changes in myocardial ischemic injury. *Arch. Pathol.* 79: 135, 1965.
- Kloner, R. A.; Ganote, C. E.; Whalen, D. A. et al. - Effects of a transient period of ischemia on myocardial cells II. Fine structure during the first few minutes of reflow. *Am. J. Pathol.* 74: 399, 1974.
- Jennings, R. B.; Ganote, C. E.; Reimer, K. A. - Ischemic tissue injury. *Am. J. Pathol.* 81: 179, 1975.
- Buja, L. M.; Levitsky, S.; Ferrans, U. L. et al. - Acute and chronic effects of normothermic anoxia on canine hearts. Light and electron microscopic evaluation. *Circulation*, 43 (Suppl. 1): 44, 1971.
- Mac Gregor, D. C.; Wilson, G. J.; Tanaka, S. et al. - Ischemic contracture of the left ventricle. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 70: 945, 1975.
- Iyengar, S. R. K.; Ramchand, S.; Charrette, E. J. P. et al. - An experimental study of subendocardial hemorrhagic necrosis after anoxic cardiac arrest. *Ann. Thorac. Surg.* 13: 214, 1972.
- Sunamori, M.; Trout, R. G.; Kaye, M. P. et al. - Quantitative evaluation of myocardial ultrastructure following hypothermic arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 76: 518, 1978.
- Lucas, S. K.; Gardner, T. J.; Elmer, E. B. et al. - Comparison of the effects of left ventricular distention during cardioplegic induced ischemic arrest and ventricular fibrillation. *Circulation*, 62 (suppl. I): 1-42, 1980.
- Whalen, D. A.; Hamilton, D. G.; Ganote, C. E. et al. - Effects of a transient period of ischemia on myocardial cells. *Am. J. Pathol.* 74: 381, 1974.
- Gomes, O. M.; Pedroso, F. I.; Pereira, S. N. et al. - Mitochondrial enzymatic alterations produced in the myocardium by anoxic cardiac arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 67: 649, 1974.
- Fischer, V. W.; Barner, H. D. - Ultrastructural integrity of human ventricular myocardium following cardioplegic arrest. *Ann. Thorac. Surg.* 27: 49, 1979.
- Buckberg, G. D. - Left ventricular subendocardial necrosis. *Ann. Thorac. Surg.* 24: 379, 1977.
- Jennings, R. B.; Kaltentbach, J. P.; Sommers, H. M. - Mitochondrial metabolism in ischemic injury. *Arch. Pathol.* 84: 15, 1967.
- Page, E.; McAllister, L. P. - Quantitative electron microscopic description of heart muscle cells. Application to normal, hypertrophied and thyroxin-stimulated heart. *Am. J. Cardiol.* 31: 172, 1973.
- Trump, B. F.; Mergner, W. J.; Khang, M. W. et al. - Studies on the subcellular pathophysiology of ischemia. *Circulation*, 53 (Suppl. I): 1-17, 1976.
- Magee, P. G.; Gardner, T. J.; Flaherty, J. T. et al. - Improved myocardial protection with propranolol during induced ischemia. *Circulation*, 62 (Suppl. I): 1-49, 1980.
- Kay, H. R.; Levine, F. H.; Fallon, J. T. et al. - Effect of cross-clamp time, temperature, and cardioplegic agents on myocardial function after induced arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 76: 590, 1979.
- Schapper, J.; Schwartz, F.; Kittstein, H. et al. - The effects of global ischemia and reperfusion on human myocardium: quantitative evaluation by electron microscopy morphometry. *Ann. Thorac. Surg.* 33: 116, 1982.
- Engelman, R. M.; Chandra, R.; Baumann, G. et al. - Myocardial reperfusion a cause of ischemic injury during cardiopulmonary by pass. *Surgery*, 80: 266, 1976.
- Engelman, R. M.; Rousov, J. H.; Dobbs, W. et al. - The superiority of blood cardioplegia in myocardial preservation. *Circulation*, 62 (Suppl. I): 1-62, 1980.
- Barner, H. B.; Kaiser, G. C.; Codd, J. E. et al. - Clinic experience with cold blood as the vehicle for hypothermic potassium cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.* 29: 224, 1980.
- Follette, D. M.; Fey, K.; Mulder, D. et al. - Prolonged safe aortic clamping by combining membrane stabilization multidose cardioplegia and appropriate pH reperfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 74: 682, 1977.
- Kanter, K. R.; Saffin, J. H.; Ehrlichman, R. J. et al. - Superiority of perfluorocarbon cardioplegia over blood crystalloid cardioplegia. *Circulation*, 64 (Suppl. II): 11-75, 1981.
- Lucas, S. K.; Gardner, T. J.; Flaherty, J. T. et al. - Beneficial effects of mannitol administration during reperfusion after ischemic arrest. *Circulation*, 62 (Suppl. I): 1-34, 1980.
- Barner, H. B.; Laks, H.; Codd, J. E. et al. - Cold blood as the vehicle for potassium cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.* 28: 509, 1979.
- Bomfim, V.; Kaijser, L.; Sylven, C. et al. - Myocardial protection during aortic valve replacement. Comparison between sanguineous and asanguineous cardioplegic solutions. *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 15: 135, 1981.
- Takamoto, S.; Levine, F. H.; La Raia, P. J. et al. - Comparison of single dose and multidose crystalloid and blood potassium cardioplegia during prolonged hypothermic aortic occlusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 79: 19, 1980.
- Hearse, D. J.; Stewart, D. A.; Braimbridge, M. V. - Metabolic and myocardial protection during elective cardiac arrest. *Cir. Res.* 36: 481, 1975.
- Ionescu, M. I. - Techniques in Extracorporeal Circulation. 2. ed. Butterworths, London, 1981.
- Cunningham, J. N.; Adams, P. X.; Knopp, E. A. et al. - Preservation of ATP, ultrastructure and ventricular function after aortic cross-clamping and reperfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 78: 708, 1979.