

AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DAS VARIAÇÕES DOS NÍVEIS DE GLICOGÊNIO, LÍPIDES TOTAIS, TRIGLICÉRIDES E ÁGUA NO MIOCÁRDIO SUBMETIDO A PARADA ANÓXICA HIPOTÉRMICA

ALTAMIRO RIBEIRO DIAS*, JOSÉ LUIZ ÁLVARES BLAS**, MARLY APARECIDA OLIVEIRA,
JANE G. N. TAVARES***, SILVIA R. C. SANTOS***, ADIB DOMINGOS JATENE****

Os autores analisaram as variações tissulares: miocárdicas de glicogênio, lípides totais, triglicérides e teores de água que ocorreram em dois grupos de cães submetidos a parada cardíaca anóxica sob circulação extracorpórea, respectivamente em normotermia e hipotermia sistêmica de 28° C. Houve quedas dos níveis de glicogênio nos dois grupos, sem diferenças significativas entre eles. Os níveis miocárdicos de lípides totais apresentaram-se relativamente estáveis nos cães a 28° C e apresentaram quedas expressivas no grupo sob normotermia. Os níveis de triglicérides mantiveram-se relativamente estáveis nos primeiros 30 minutos de anóxia, apresentando a partir daí quedas expressivas. Os teores de água decresceram em ambos os grupos, particularmente nos cães operados sob normotermia.

Inúmeros trabalhos têm sido publicados sobre as alterações miocárdicas decorrentes da parada cardíaca anóxica.

O conhecimento dessas alterações tem motivado o desenvolvimento de várias técnicas de proteção miocárdica com o objetivo de minimizar os efeitos deletérios da anóxia.

A experiência clínico-cirúrgica vem consagrando o uso rotineiro da hipotermia sistêmica moderada (28.°C), associada a pinçamentos intermitentes da aorta e/ou a infusão de solução cardioplégica.

Vários são os critérios utilizados para o estudo dos diferentes métodos de proteção miocárdica, tais como avaliações da contratilidade ventricular, estudos de ultramicroscopia, análises bioquímicas de componentes celulares, etc.

Interessados no assunto, propusemo-nos a estudar inicialmente as possíveis alterações miocárdicas em cães submetidos a parada anóxica, utilizando, nesta fase inicial, apenas a hipotermia sistêmica a 23.°C como método de proteção miocárdica.

A avaliação foi feita através da análise comparativa das variações dos teores teciduais de glicogênio, lípides totais,

triglicérides e água, em 2 grupos de 5 cães, sendo um grupo de controle, em normotermia, e outro grupo submetido à hipotermia sistêmica de 28°C.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 cães com pesos entre 15 e 20 kg. Após anestesia geral, os animais foram submetidos à esternotomia mediana e conectados a sistema de circulação extracorpórea (CEC), tendo sido utilizados os oxigenadores de bolhas modelo INCOR.

Estabelecida a CEC e estabilizadas condições hemodinâmicas, 5 cães foram mantidos em normoterapia (grupo I), nos outros 5 (grupo II), realizou-se hipotermia sistêmica a 28°C.

Todos os animais foram submetidos à parada cardíaca anóxica através de pinçamento da aorta. No grupo II, o pinçamento foi realizado após a temperatura sistêmica atingir 28°C.

Foram realizadas dosagens de glicogênio, lípides totais triglicérides e água em duplicata, em fragmentos do miocárdio do ventrículo esquerdo (cerca

Trabalho realizado pela Divisão Cirúrgica e Laboratório de Pesquisas do Instituto do Coração (INCOR) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

* Professor-docente do Departamento de Cirurgia da FMUSP.

** Médico-estagiário da Divisão de Cirurgia do INCOR do Hospital das Clínicas da FMUSP.

*** Bioquímica do Serviço de Laboratório do INCOR do Hospital das Clínicas da FMUSP.

**** Professor-Titular da Disciplina de Cirurgia Torácica.

de 10 mg) obtidos na parede anterior próximo a ponta. Adotou-se como valor de cada período o valor médio obtido da duplicata realizada.

Foram colhidos 5 pares de fragmentos em cada cão sendo o 1.º imediatamente antes do estabelecimento da anóxia miocárdica e os demais após 15, 30, 45 e 60 min do pinçamento aórtico. Frise-se que todos os fragmentos do grupo II foram colhidos quando a temperatura sistêmica era 28.ºC.

As dosagens foram realizadas conforme as técnicas de Seyfter¹⁻⁴, Solone⁵ e Kirch e Zoliner⁶ que possibilitaram a determinação simultânea dos teores de glicogênio, lípidos, triglicérides e água.

Os valores obtidos foram submetidos a tratamento estatístico pelo teste t de Student, para dados emparelhados.

RESULTADOS

Os níveis de glicogênio oscilaram no grupo I, de um valor médio basal de 5,54 ± 4,4 µg/mg de miocárdio à 4,26 ± 0,82 µg/mg de miocárdio aos 60 min de anóxia.

No grupo II o valor médio basal foi de 7,24 ± 1,72 µg/mg de miocárdio para 5,01 ± 1,15 µg/mg de miocárdio aos 60 min de anóxia à temperatura sistêmica de 28.ºC (tab. 1).

Vê-se que foi evidenciado o decréscimo nos níveis de glicogênio para os cães dos grupos-controle em normotermia e hipotermia (tab. I) em função do tempo de pinçamento da aorta.

Utilizando o teste t e o número de animais disponíveis em cada grupo para avaliação estatística dos resultados vê-se que as variações nos níveis de glicogênio mostraram diferenças não significativas entre os dois grupos estudados.

Os lípidos totais variaram de um nível basal de 0,1186 ± 0,0498 µEq/mg de miocárdio para 0,0886 ± 0,0204 µEq/mg de miocárdio aos 60 min de anóxia no grupo I.

No grupo II a variação foi de 0,0954 ± 0,0219 µEq/mg de miocárdio (basal) para 0,0971 µEq/mg de miocárdio aos 60 minutos de anóxia em hipotermia, não sendo expressiva (tab. II).

O estudo do grupo controle em normotermia mostrou acentuada variação nos níveis de lípidos totais em função do tempo de hipóxia (tab. III).

Os níveis miocárdicos de triglicérides variam no grupo I de um nível basal de 0,0294 ± 0,0169 µEq/mg de tecido para 0,0233 - 0,0151. µEq/mg de tecido.

No grupo II os valores basais foram de 0,0182 ± 0,0121 µEq/mg de miocárdio e ao fim de 60 minutos de anóxia 0,0171 ± 0,0104 µEq/mg (tab. II).

Os dados obtidos pela análise de triglicérides em músculo cardíaco de cão mostraram diferenças estatísticas significativas (P < 0,1) entre os dois grupos, indicando maior mobilização dos triglicérides no grupo controle do que no grupo em hipotermia.

O conteúdo de água nas amostras do grupo I foi de 19,54 ± 4,49% - valor basal e 18,21 ± 3,26% após 60 minutos

de anóxia. No grupo II o valor 37%. basal do conteúdo de água foi de 24,33 ± 4,37%. Após 60 minutos de anóxia à temperatura sistêmica de 28.ºC o conteúdo miocárdio de água foi de 21,48 ± 3,46% (tab. III).

Tabela I - Níveis tissulares de glicogênio.

		Glicogênio µEq/mg de miocárdio seco
Grupo I Normotermia	Basal	5,54 ± 4,41
	15'	6,20 ± 1,82
	30'	7,84 ± 6,31
	45'	5,85 ± 4,68
	60'	4,26 ± 0,82
Grupo II Hipotermia 28.ºC	Basal	7,24 ± 1,72
	15'	6,67 ± 1,32
	30'	5,40 ± 3,26
	45'	7,70 ± 1,46
	60'	5,01 ± 1,15

Tabela II - Lípidos totais e triglicérides.

		Lípidos totais µEq/mg de miocárdio seco	Triglicérides µEq/mg de miocárdio seco
Grupo I Normotermia	Basal	0,1186 ± 0,0498	0,0294 ± 0,0169
	15'	0,1068 ± 0,0401	0,0268 ± 0,0130
	30'	0,1337 ± 0,0280	0,0262 ± 0,0115
	45'	0,1262 ± 0,0398	0,0214 ± 0,0100
	60'	0,0886 ± 0,0204	0,0233 ± 0,0151
Grupo II Hipotermia 28.ºC	Basal	0,0954 ± 0,0219	0,0182 ± 0,0121
	15'	0,0995 ± 0,0174	0,0181 ± 0,0110
	30'	0,0933 ± 0,0202	0,0168 ± 0,0096
	45'	0,0852 ± 0,0083	0,0120 ± 0,0045
	60'	0,0971 ± 0,0190	0,0171 ± 0,0104

Tabela III - Grupo I - controle em normotermia - Grupo II - controle em hipotermia

		Conteúdo de água %
Grupo I Normotermia	Basal	19,54 ± 4,49
	15'	18,88 ± 6,44
	30'	18,07 ± 3,95
	45'	18,31 ± 3,34
	60'	18,21 ± 3,26
Grupo II Hipotermia	Basal	24,33 ± 4,37
	15'	21,97 ± 3,40
	30'	21,23 ± 2,72
	45'	20,41 ± 4,25
	60'	21,48 ± 3,46

A água no tecido cardíaco mostrou decréscimo significativo em função do tempo de cirurgia. Assim sendo houve perda significativa do conteúdo de água do tecido para os dois grupos controle sendo entretanto mais acentuada no controle em normotermia (tab. III).

COMENTÁRIOS

Vários são os relatos na literatura avaliando a eficácia dos diferentes métodos de perfusão miocárdica. A influência benéfica da hipotermia sistêmica e/ou seletiva do miocárdio é um fato aceitável uni-

versalmente como protetor do miocárdio submetido à anóxia⁷.

A demonstração objetiva dos efeitos benéficos dos diferentes métodos de proteção miocárdica tem sido feita através da análise do comportamento de vários parâmetros, destacando-se: a) Estudos de alterações ultramicroscópicas antes e após anóxia; b) Avaliação de grandezas que refletem o desempenho hemodinâmico do coração; c) Análises bioquímicas dos constituintes celulares; d) etc.

Adotamos nesta investigação o critério de estudar o comportamento do glicogênio, lípidos totais e triglicérides por serem estas substâncias diretamente relacionadas ao metabolismo energético celular. Embora suas concentrações sejam pequenas, os métodos bioquímicos¹⁻⁶ utilizados são bastante fiéis para retratar alterações de concentrações no tempo empregado na presente pesquisa (60 minutos).

O glicogênio tissular em nosso material apresentou variações nos dois grupos estudados, não se tendo demonstrado diferenças significativas na intensidade dessa variação entre dois grupos. Possivelmente com tempo mais prolongado de anóxia esse fato venha a ocorrer.

Para se evitar consumo de glicogênio no miocárdio submetido à anóxia há necessidade de resfriamento mais intenso (11.°C), conforme demonstrado por Grover e col⁸.

Os lípidos apresentaram sensível decréscimo no grupo submetido a anóxia e normotermia, variando de 0,1186 \pm 0,0498 μ Eq/mg a 0,0886 \pm 0,0204 μ Eq/mg.

Através da análise estatística dos dados obtidos podem-se observar diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os dois grupos nos períodos compreendidos entre 30 e 45 minutos da hipóxia pelo pinçamento da aorta, indicando maior mobilização dos lípidos totais do grupo-controle em normotermia relativamente àquele em hipotermia.

Já no grupo em hipotermia não houve variação apreciável dos teores de lípidos aos 60.° de anóxia. Embora o número de animais estudados não seja grande, a comparação entre os grupos sugere um efeito protetor da hipotermia em relação ao consumo de lípidos.

Os níveis de triglicérides caíram nos dois grupos, tendo sido a variação mais intensa no grupo com normotermia.

Observa-se, entretanto, que os níveis de triglicérides mantiveram-se praticamente constantes durante o estudo de cães nos dois grupos estudados até 30 minutos do pinçamento, mostrando à partir daí diminuições significativas em cada grupo, em função da hipóxia pelo pinçamento da aorta (tab. II, evidenciando um consumo mais tardio dessas substâncias.

SUMMARY

The authors analyzed the variations of glycogen, total lipids, triglycerides and water contents in myocardial tissue occurred in two groups of dogs submitted to anoxic: cardiac arrest under extracorporeal circulation in normothermia and hypothermia (28°C).

There were important, but not significant, decreases in glycogen levels in both groups.

The total lipid levels decreased in the normothermic group and not in the hypothermic one.

The triglyceride levels remained stable during the first 30 minutes of arrest and decreased thereafter.

The total amount of water decreased in both groups progressively after surgery, especially in the normothermic group.

REFERÊNCIAS

1. Brixová, E.; Dzuriková, V. - Determination of glycogen, lipids and proteins in hepatic needle biopsy. *Clin. Chim. Act.* 36: 543, 1972.
2. Johaun, C.; Lentini, E. A. - Simultaneous determination of glycogen and total lipids from heart muscle. *Analytical Biochem.* 43: 183, 1971.
3. Hassid, W. Z.; Abraham - Chemical procedures for analysis of glycogen and starch. *Meth. Enzymol.*, N.Y. 3: 34, 1957.
4. Seyfter, S.; Dayton, S.; Novic, B.; Muntwyler, E. - The estimation of glycogen with anthrone reagent. *Arch. Biochem.* 25: 191, 1950.
5. Solone, F. G. - Simplified manual micro method for determination of serum triglyceride. *Clin. Chem.* 17: 529, 1971.
6. Kirch, K.; Zoliner, N. - Uber die quantitative bestimmung vom Lipolden mittels der vislen naturlichern Lipoidern gemelsarnem Sulfophosphova - millim Reaktica. *Z. Ges. Exp. Med.* 135: 543, 1962.
7. Vinas, Joseph, F.; Fewel, M. D.; John, G.; Arom, B. A.; Kit, V.; Trinkle, M. D.; Kent, J.; Grover, D.; Frederick, L. - Effects of systemic hypothermia on myocardial metabolism and coronary blood flow in the fibrillating heart. *J. Thorac. Cardiol. Surg.* 77: 900, 1979.
8. Grover, F. L.; Fewel, J. G.; Ghidoni, J. J.; Trinkle, J. K. Does lower systemic temperature enhance cardioplegic myocardial protection? *J. Thorac. Cardiol. Surg.* 1: 11-20, 1981.