

Avaliação do Comportamento Mecânico do Coração por Meio de Músculos Papilares Isolados. Análise Crítica do Método

Marina Politi Okoshi, Antonio Carlos Cicogna
Botucatu, SP

Desde o trabalho de Frank ¹, em 1895, inúmeras investigações foram realizadas com a finalidade de descrever e analisar o comportamento do coração como bomba. Entretanto, em razão da complexa geometria do coração, esses estudos não permitiram a análise do comportamento mecânico do músculo cardíaco em nível comparável àquelas realizadas com músculo esquelético. Abbott e Mommaerts ², em 1959, e Sonnenblick ³, em 1962, utilizando músculos papilares do ventrículo direito de gatos, descreveram algumas das propriedades mecânicas fundamentais do músculo cardíaco como, por exemplo, as relações comprimento-tensão e força-velocidade. A partir dessa ocasião, os músculos isolados passaram a ser largamente utilizados como métodos de investigação experimental em cardiologia, possibilitando a aquisição de amplos conhecimentos de mecânica muscular em miocárdio normal ou patológico ⁴⁻¹¹.

Existem diversas vantagens para utilização de músculos cardíacos isolados, como os papilares, nos estudos da função mecânica do miocárdio: 1) os músculos papilares possuem arranjo aproximadamente paralelo das fibras musculares, o que contrasta com a complexa orientação das fibras na parede ventricular ¹²; 2) a simplicidade de sua geometria permite normalizar determinados parâmetros, como força, comprimento e seus derivados temporais, de maneira que músculos de diferentes tamanhos possam ser comparados ¹²⁻¹⁴; 3) em estudos com músculos isolados é possível controlar, de modo independente e preciso, o comprimento muscular de repouso e a pós-carga, o que dificilmente pode ser realizado em outros tipos de preparações, como o coração intacto ¹¹; 4) experimentos com músculos cardíacos isolados permitem o estudo da função mecânica do miocárdio sem a influência de fatores extrínsecos, como a circulação coronária e o sistema neuro-humoral ¹⁰; 5) a preparação com músculo papilar isolado apresenta grande estabilidade, o que possibilita a sua utilização durante várias horas ^{2,3,12,15}.

Entretanto, ao estudar-se a função mecânica do miocárdio por meio de músculos papilares isolados, é necessário levar em conta que existem fatores que podem alterar os resultados dos experimentos. Estes podem ser introduzidos pelo pesquisador ou são inerentes ao próprio sistema metodológico.

Dentre os fatores que, introduzidos pelo pesquisador, podem induzir a erros nos resultados, destacam-se os seguintes: 1) dissecação inadequada ou demorada do músculo, acarretando lesão muscular ou permanência por tempo prolongado em hipóxia; 2) estiramento muscular excessivo, durante a preparação do músculo para o experimento ou no momento da obtenção de Lmax (denomina-se Lmax, o comprimento diastólico da fibra cardíaca no qual a tensão desenvolvida é máxima; 3) tempo insuficiente para estabilização do músculo, antes do início do experimento. Pesquisadores que utilizam músculos papilares isolados aguardam período de 30 a 180min para estabilização do músculo, antes de iniciar o experimento. Na maioria dos trabalhos, verifica-se que o tempo de estabilização tem sido de 60min ¹⁶⁻²³. Além dos fatores citados existem outros, inerentes ao sistema metodológico, que podem introduzir erros na avaliação da função mecânica muscular: oxigenação inadequada e lesão das extremidades dos músculos papilares ^{12,16,24,25}.

A oxigenação e a nutrição do músculo papilar isolado são realizadas por difusão de nutrientes e oxigênio, a partir da solução em que os músculos estão imersos, para as células miocárdicas. A disponibilidade de quantidade adequada de oxigênio para todas as células do músculo papilar isolado é determinada por: 1) fatores que influenciam a velocidade de utilização do oxigênio pelas células miocárdicas; 2) distância entre a superfície externa do músculo e seu eixo central, ou seja, o raio do músculo; 3) pressão parcial de oxigênio da solução ²⁵.

Os principais fatores que influenciam a velocidade de utilização de oxigênio pelo miocárdio são: contratilidade, tensão desenvolvida pelo músculo cardíaco e frequência cardíaca ^{26,27}. Nos experimentos com músculo cardíaco isolado, pode-se controlar facilmente a frequência de estímulos e determinados parâmetros que influenciam a contratilidade, como a temperatura e a qualidade da solução nutriente. Assim, é possível realizar os experimentos em condições que permitam menor consumo de oxigênio pela fibra cardíaca.

O raio máximo do músculo, compatível com adequada oxigenação de todas as células cardíacas, foi denominado por Hill de raio crítico do músculo ²⁸. Apesar de diversos autores terem procurado determinar o raio ou diâmetro crítico do músculo, não há concordância na literatura a respeito do provável valor deste parâmetro ^{24,25,29}.

A dificuldade em estabelecer o diâmetro crítico do músculo isolado deve-se ao fato que este valor varia de acordo com as condições de cada experimento, uma vez

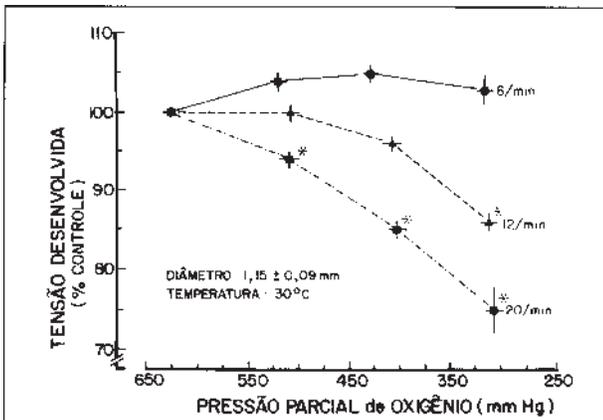


Fig. 1 - Influência da variação da frequência de contrações sobre a tensão desenvolvida durante reduções da pressão parcial de oxigênio da solução nutriente. * - diferença estatisticamente significativa do controle. Paradise et al²⁵.

que a oxigenação adequada das células musculares depende, também, da velocidade de utilização do oxigênio pelo músculo e da pressão parcial de oxigenação da solução. Esta questão foi bem estudada no trabalho de Paradise e col²⁵. Os autores mostraram, em músculo papilar isolado de gato, que o diâmetro crítico pode ser variável, conforme a frequência de estímulos a que o músculo é submetido e a temperatura da solução nutriente utilizada. Neste experimento, promoveram reduções na pressão parcial de oxigênio (PO_2) da solução e analisaram a tensão desenvolvida pelo músculo. Verificou-se que reduções graduais na PO_2 , em presença de frequência de estímulo mais elevada, acarretaram maior diminuição na tensão desenvolvida (Fig. 1). Em relação à temperatura da solução nutriente, verificou-se que músculos estimulados com frequência de 30bpm, quando mantidos em solução a 37°C, apresentaram diâmetro crítico de 0,89mm. Em temperatura de 30°C, o diâmetro crítico do músculo foi de 0,94mm.

Snow e Bressler²⁴ utilizaram parâmetros mecânicos e metabólicos (medida intramitocondrial da fluorescência da nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida -NADH) para detectar a presença de hipóxia em músculos papilares isolados de coelho. Esses pesquisadores verificaram que o desenvolvimento de hipóxia, neste tipo de preparação, foi improvável quando os experimentos eram realizados a 25°C, com frequência de estímulos até 48bpm e área seccional menor do que 1,16mm². Frezza e Bing²⁸ não conseguiram mostrar a presença de hipóxia em músculos isolados com área seccional inferior a 1,76mm², em solução nutriente com PO_2 acima de 450mmHg.

Apesar das dificuldades em se estabelecer o diâmetro crítico do músculo, por meio de dados de literatura, a maioria dos autores utiliza músculos com áreas seccionais cujos limites superiores estão entre 1,0 a 1,5mm^{13,20,30,31}.

Embora aparentemente não ocorra hipóxia em músculos papilares isolados, nesta faixa de valvas de área seccional, diversos autores verificaram a existência de relação inversa entre área seccional e tensão desenvolvida pelo músculo corrigida para a área seccional^{19,28,32}. A razão deste fenômeno não está estabelecida. Delbridge e

Loiselle¹⁹ examinaram a possibilidade de que a relação inversa entre área seccional e tensão desenvolvida pudesse ter base ultra-estrutural. Entretanto, os autores concluíram, baseados nas proporções relativas de mitocôndria e matriz contrátil, que a ultra-estrutura celular não seria fator contribuinte para a relação inversa entre área seccional e tensão desenvolvida corrigida para área seccional, é recomendável que, ao se comparar a função mecânica de músculos papilares isolados, se procure utilizar fibras com áreas seccionais semelhantes.

Outro determinante da disponibilidade de quantidade adequada de oxigênio para as células do músculo papilar isolado é a PO_2 da solução nutriente. Com a finalidade de facilitar a difusão de oxigênio para o interior da fibra miocárdica, procura-se manter a PO_2 da solução entre 550 a 600mmHg^{12,16,28,33,34}. A influência da PO_2 sobre o desempenho mecânico do músculo isolado pode ser verificada na figura 2. Observa-se que a redução da PO_2 acarreta queda no valor da tensão desenvolvida pelo músculo.

Além da oxigenação inadequada do músculo, outro fator que pode interferir nos resultados dos experimentos é a lesão das extremidades da fibra cardíaca.

O estudo mecânico de músculos cardíacos isolados exige que as extremidades dos mesmos sejam presas a anéis de aço ou amarradas com fios apropriados. Apesar da fixação ser realizada nos excessos da musculatura preservados nas extremidades do músculo, tem sido mostrado que o processo de preensão promove lesões das extremidades, alterando o desempenho da fibra cardíaca isolada^{12,17,35}.

Vários autores^{12,16,23,36,38} observaram em músculo papilar isolado que, durante contrações isométricas, ocorre encurtamento das porções centrais do músculo. A extensão deste encurtamento, em fibras cardíacas mantidas em L_{max} , variou de 6% a 11% do comprimento de repouso do músculo. Os experimentos revelaram que ocorria maior encurtamento das porções centrais dos músculos

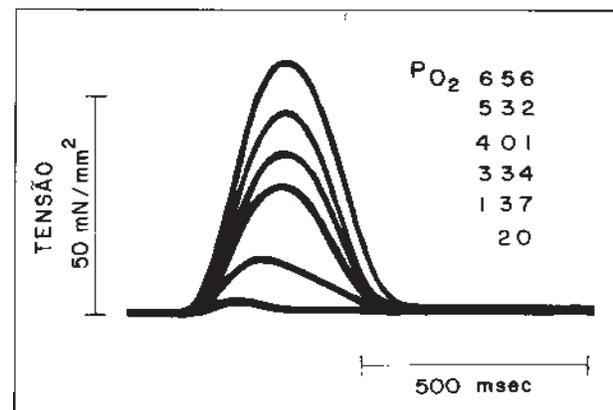


Fig. 2 - Influência da variação da pressão parcial de oxigênio da solução nutriente sobre a tensão desenvolvida pelo músculo. Paradise et al²⁵.

quando estes se encontravam em menores comprimentos diastólicos. O encurtamento das células das regiões centrais é provocado pelo estiramento das áreas que foram lesadas durante o processo de fixação das extremidades do músculo^{16,17,23,37}.

A influência da lesão das extremidades sobre o comportamento mecânico do miocárdio foi analisada por Donald e col¹², em músculos papilares isolados de gatos. Os autores mantiveram constante o comprimento do segmento central da fibra cardíaca, durante contrações isométricas, por meio de manobra que promovia estiramento do músculo no início da contração. Os pesquisadores observaram que, nesta situação, a tensão desenvolvida era 45% maior do que os valores obtidos em contrações isométricas convencionais. O artifício utilizado para promover estiramento do músculo no início da contração, quando aplicado em músculos em contrações isotônicas, também ocasionava melhora do comportamento mecânico da fibra cardíaca.

Apesar das limitações que a metodologia apresenta, que poderiam alterar os resultados dos estudos sobre mecânica do músculo cardíaco, o método é muito útil em investigações em que se analisa comparativamente músculos em diferentes condições de estado contrátil, ou em que se avalia o efeito de drogas sobre a fibra miocárdica. É importante lembrar que foram as informações obtidas a partir de músculos cardíacos isolados sobre a mecânica muscular que proporcionaram a aquisição de amplos conhecimentos em cardiologia, como compreensão dos fatores que regulam o desempenho do coração^{3,39,41}, análise e desenvolvimento de modelos mecânicos aplicados ao músculo cardíaco^{2,42}, reconhecimento da relação existente entre estiramento muscular e contratilidade miocárdica⁵ e compreensão da fisiopatologia e tratamento da isquemia e hipóxia miocárdicas⁴³⁻⁴⁵.

Referências

1. Frank O - Zur dynamik des hermskels. Ztschr F Biol 1895; 32: 370-47. Traduzido por Chapman CB, Wasserman E- On the dynamics of cardiac muscle. Am Heart J 1959; 58: 282-317, 467-78.
2. Abbott BC, Mommaerts WFHM - A study of inotropic mechanisms in the papillary muscle preparation. J Gen Physiol 1959; 42: 533-51.
3. Sonnenblick EH - Force-velocity relations in mammalian heart muscle. Am J Physiol 1962;202:931-9.
4. Yeatman LA, Parmley WW, Sonnenblick EH - Effects of temperature on series elasticity and contractile element motion in heart muscle. Am J Physiol 1969; 217:1030-
5. Parmley WW, Chuck L - Length-dependent changes in myocardial contractile state. Am J Physiol 1973;224: 1195-9.
6. Lakatta EG, Jewell BR - Length-dependent activation. Its effect on the length-tension relation in cat ventricular muscle. Circ Res 1977; 40: 251-7.
7. Elzinga G, Westerhof N - "Pressure-volume" relations in isolated cat trabecula. Circ Res 1981; 49: 388-94.
8. Allen DG, Kurihara S - The effects of muscle length on intracellular calcium transients in mammalian cardiac muscle. J Physiol 1982; 327: 79-94.
9. Brutsaert DL, Rademakers FE, Sys SU - Triple control of relaxation: implications in cardiac disease. Circulation 1984; 69: 190-6.
10. Gillebert TC, Sys SU, Brutsaert DL - Influence of loading patterns on peak length-tension relation and on relaxation in cardiac muscle. J Am Coll Cardiol 1989; 13: 483-90.
11. Zile MR, Conrad CH, Gaasch WH, Robinson KG, Bing OHL - Preload does not affect relaxation rate in normal, hypoxic, or hypertrophic myocardium. Am J Physiol 1990; 258: H191-7.
12. Donald TC, Reeves DNS, Reeves RC, Walker AA, Hefner LL - Effect of damaged ends in papillary muscle preparations. Am J Physiol 1980; 238: H14-23.
13. Conrad CH, Brooks WW, Robinson KG, Bing OHL - Impaired myocardial function in spontaneously hypertensive rats with heart failure. Am J Physiol 1991; 260: H136-45.
14. Bing OHL, Brooks WW, Conrad CH, Sen S, Perreault CL, Morgan JP - Intracellular calcium transients in myocardium from spontaneously hypertensive rats during the transition to heart failure. Circ Res 1991; 68: 1390-400.
15. Chiu YL, Ballou EW, Ford LE - Internal viscoelastic loading in cat papillary muscle. Biophys J 1982; 40: 109-20.
16. Krueger JW, Pollack GH - Myocardial sarcomere dynamics during isometric contraction. J Physiol 1975; 251: 627-43.
17. Huntsman LL, Joseph DS, Oiy MY, Nichols GL - Auxotonic contractions in cardiac muscle segments. Am J Physiol 1979; 237: H 131-8.
18. Paulus WJ, Claes VA, Brutsaert DL - End-systolic pressure-volume relation estimated from physiologically loaded cat papillary muscle contractions. Circ Res 1980; 46: 20-6.
19. Delbridge LM, Loiselle DS - An ultrastructural investigation into the size dependency of contractility of isolated cardiac muscle. Cardiovasc Res 1981;15: 21-7.
20. Capasso JM Malhotra A, Remily RM, Scheuer J, Sonnenblick EH - Effects of age on mechanical and electrical performance of rat myocardium. Am J Physiol 1983; 245: H72-81.
21. Cicogna AC, Bing OHL - Influência da anestesia e/ou degolamento sobre o comportamento mecânico de músculos papilares isolados de ventrículo esquerdo de ratos. Arq Bras Cardiol 1989; 53: 197-200.
22. Seppet EK, Eimre MA, Kallikorn AP - Modulation of stimulation frequency responses and calcium dependency of functional parameters in hyperthyroid rat ventricular papillary muscles. Can J Physiol Pharmacol 1990; 68: 1214-20.
23. de Tombe PP, ter Keurs HEDJ - Sarcomere dynamics in cat cardiac trabeculae. Circ Res 1991; 68: 588-96.
24. Snow TR, Bressler PB - Oxygen sufficiency in working rabbit papillary muscle at 25°C. J Am Coll Cardiol 1977; 9: 595-604.
25. Paradise NF, Schmitter JL, Surmitis JM - Criteria for adequate oxygenation of isometric kinen papillary muscle. Am J Physiol 1981; 241: H348-53.
26. Braunwald E, Ross Jr, Sonnenblick EH - Myocardial energetics. In: Braunwald E, Ross J Jr, Sonnenblick EH - Mechanisms of Contraction of the Normal and Failing Heart 2nd ed. Boston Little & Brown 1976; 166-99.
27. Braunwald E, Sobel BE - Coronary blood flow and myocardial ischemia. In: Braunwald E - A Textbook of Cardiovascular Medicine, 4th ed. Philadelphia, WB Saunders 1992; 1161-99.
28. Frezza WA, Bing OHL - PO₂-modulated performance of cardiac muscle. Am J Physiol 1976; 231: 1620-4.
29. Gibbs CL - Cardiac energetics. Physiol Rev 1978; 58: 174-254.
30. Bing OHL, Brooks WW, Wiegner AW - Myocardial mechanics in two models of pressure overload hypertrophy. Perspect Cardiovasc Res 1983; 8: 167-77.
31. Poggesi C, Reggiani C, Bottinelli R, Ricciardi L, Minelli R - Relaxation in atrial and ventricular myocardium: activation decay and different load sensitivity. Basic Res Cardiol 1983; 78: 256-65.
32. Bing OHL, Matsushita S, Fanburg BL, Levine HJ - Mechanical properties of rat cardiac muscle during experimental hypertrophy. Circ Res 1971; 28: 234-45.
33. ter Keurs HEDJ, Rijnsburger WH, Heuningen RV, Nagelsmit MJ - Tension development and sarcomere length in rat cardiac trabeculae. Evidence of length-dependent activation. Circ Res 1980; 46: 703-14.
34. Cicogna AC, Padovani CR, Nardi SC, Okoshi MP - Efeito do envelhecimento sobre o comportamento mecânico dos músculos papilares de ratos Wistar. Arq Bras Cardiol 1993; 60: 215-9.
35. Julian FJ, Sollins MR, Moss RL - Absence of a plateau in length-tension relationship of rabbit papillary muscle when internal shortening is prevented. Nature 1976; 260: 340-2.
36. Julian FJ, Sollins MR - Sarcomere length-tension relations in living rat papillary muscle. Circ Res 1975; 37: 299-308.
37. Huntsman LL, Day SR, Stewart DK - Nonuniform contraction in the isolated cat papillary muscle. Am J Physiol 1977; 233: H613-6.
38. Wiegner AW, Bing OHL - Laser scanner measurement of central segment performance in isolated cardiac muscle preparations. Am J Physiol 1979; 237:H260-4.

-
- 39 Henderson AH, Brutsaert DL, Parmley WW, Sonnenblick EH - Myocardial mechanisms in papillary muscles of the rat and cat. *Am J Physiol* 1969; 217: 1273-9.
40. Brutsaert DL, Sys SU - Relaxation and diastole of the heart. *Physiol Reviews* 1989;69: 1228-315.
41. Brutsaert DL, Rademakers FE, Sys SU, Gillebert TC, Housmans PR - Analysis of relaxation in the evaluation of ventricular function of the heart. *Progr Cardiovasc Dis* 1985; 28:143-63.
42. Yeatman LA, Parmley WW, Urschel CW, Sonnenblick EH - Dynamics of contractile elements in isometric contractions of cardiac muscle. *Am J Physiol* 1971; 220:534-42.
43. Cicogna AC, Padovani CR, Brooks WW et al - Protective effects of diltiazem on the mechanical performance of the hypoxic myocardium. *Brazilian J Med Biol Res* 1993; 26: 859-68.
44. Greene HL, Weisfeldt ML - Determinants of hypoxic and posthypoxic myocardial contracture. *Am J Physiol* 1977; 232: H526-33.
45. Henry PD, Whal AM - Diltiazem and nitrendipine suppress hypoxic contracture in quiescent ventricular myocardium. *Eur Heart J* 1983; 4: 819-22.
-